

Aus dem Landesuntersuchungsamt für das
Gesundheitswesen in Nordbayern, Abteilung II
in Nürnberg

Leiter: Ltd. Vet. Dir. Dr. K. Bauer

vorgelegt über

das Institut für Medizinische Mikrobiologie
Infektions- und Seuchenmedizin
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Professor Dr. Dr. h. c. mult. A. Mayr

Zur Problematik geeigneter und praktikabler Grenzwerte (cut-off-Werte) in der Diagnostik der Infektiösen bovinen Rhinotracheitis (IBR/IPV) mittels ELISA

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Arndt-Siegfried Eiler
aus Erlangen

München 1987



Aus dem Landesuntersuchungsamt für das
Gesundheitswesen in Nordbayern, Abteilung II
in Nürnberg

Leiter: Ltd. Vet. Dir. Dr. K. Bauer

vorgelegt über

das Institut für Medizinische Mikrobiologie
Infektions- und Seuchenmedizin
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Professor Dr. Dr. h. c. mult. A. Mayr

Zur Problematik geeigneter und praktikabler Grenzwerte (cut-off-Werte) in der Diagnostik der Infektiösen bovinen Rhinotracheitis (IBR/IPV) mittels ELISA

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Arndt-Siegfried Eiler
aus Erlangen

München 1987

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Zucker

Referent: Prof. Dr. Dr. h.c. mult. A. Mayr

Korreferent: Prof. Dr. Dr. h.c. G. Dirksen

Tag der Promotion: 24. Juli 1987

I. Einleitung

II. Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
2. Beschreibung des Problems	2
3. Zielsetzung und Aufgabenstellung	3
4. Methodik	4
5. Ergebnisse und Diskussion	5
6. Zusammenfassung und Schlussfolgerungen	6
7. Literaturverzeichnis	7
8. Anhang	8
9. Bibliographie	9
10. Glossar	10
11. Index	11
12. Meinen Eltern	12

III. Bibliographie

1. Einleitung	1
2. Zielsetzung und Aufgabenstellung	2
3. Methodik	3
4. Ergebnisse und Diskussion	4
5. Zusammenfassung und Schlussfolgerungen	5
6. Literaturverzeichnis	6
7. Anhang	7
8. Bibliographie	8
9. Glossar	9
10. Index	10
11. Meinen Eltern	11



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554827_0115

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	1
II. Literaturteil	2
1. Geschichtliches	2
2. Verbreitung der IBR	2
3. Äthiologie und Epizootiologie	5
4. Klinisches Erscheinungsbild	6
5. Diagnosestellung	7
6. Immunologie und Bekämpfung	7
7. Nachweismethoden unter der Berücksichtigung ihrer Eignung zur Diagnose der IBR	11
8. Vorteile des ELISA	13
9. Problematik des ELISA	14
9.1. Hintergrundreaktionen	14
9.2. Weitere Fehlermöglichkeiten	15
III. Eigene Untersuchungen	16
1. Material, Methode und Beurteilungsmaßstäbe	16
1.1. Das ELISA System	16
1.2. Der Serumneutralisationstest	19
2. Ergebnisse	20
2.1. Verteilung der Erstproben im fraglichen Bereich	20
2.2. Verteilung der fraglichen Werte der Zweituntersuchungen	22
2.3. Verteilung der im SN-Test positiven bzw. negativen Proben nach ihren Werten bei der Erstuntersuchung im ELISA	24

	Seite
2.4. Verteilung der im ELISA positiven bzw. negativen Proben nach ihren Werten bei der Erstuntersuchung im ELISA	27
2.5. Verteilung der in der Endbeurteilung positiven bzw. negativen Proben nach ihren Werten bei der Erstuntersuchung im ELISA	30
2.6. Verteilung der fraglichen Werte für 183 Tiere, bei denen nur die Zweituntersuchung gewertet werden konnte	33
2.7. Verteilung der Werte im ELISA der in der Endbeurteilung positiven bzw. negativen Proben, bei denen nur die Zweituntersuchung gewertet werden konnte	34
2.8. Beurteilung positiver bzw. fraglicher Sammel-milchproben durch Einzeltieruntersuchung der Bestände	37
2.9. Tabellen der Meßwerte	38
IV. Diskussion der Ergebnisse	42
V. Zusammenfassung	47
VI. Summary	49
VII. Literaturverzeichnis	51

I. Einleitung

Die infektiöse bovine Rhinotracheitis/infektiöse pustulöse Vulvovaginitis (IBR/IPV) hat in ihrer Bedeutung in den letzten Jahren ständig zugenommen. Dafür gibt es verschiedene Ursachen:

- Einmal infizierte Tiere bleiben lebenslang Träger des Virus der IBR und stellen damit potentielle Ausscheider dar.
- Latent infizierte Tiere werden als solche nicht erkannt und bilden somit ein mögliches Krankheitsreservoir.
- Es existiert noch kein einheitliches Bekämpfungsprogramm, was zur Folge hat, daß sich die IBR weltweit immer mehr ausbreiten kann.

Die oben genannten Tatsachen stellen ein erhebliches Problem in der Rinderzucht und vor allem im Handel - speziell im Exporthandel - dar. Daraus erklärt sich der Wunsch nach dem Zustandekommen von Bekämpfungsprogrammen, die nach Möglichkeit darauf ausgerichtet sein sollen, die IBR/IPV zu tilgen.

Mögliche Erradikationsprogramme setzen jedoch eine praktikable serologische Diagnostik voraus, sowohl vom finanziellen als auch vom labortechnischen und zeitlichen Aufwand her. Hierfür bietet der ELISA (enzyme-linked-immunosorbent-assay), der erstmals von Engvall und Perlmann 1971 beschrieben wurde, günstige Voraussetzungen.

In der Praxis der IBR/IPV Diagnostik hat sich nun gezeigt, daß die erhaltenen Meßwerte nicht immer eine eindeutige Zuordnung "positiv" oder "negativ" gestatten, so daß ein Bereich dazwischen mit der Bezeichnung "fraglich" geschaffen wurde.

Im Rahmen dieser Arbeit soll nun der Versuch unternommen werden, diesen "fraglichen" Bereich fundiert und praktikabel zu begrenzen.

II. Literaturteil

1. Geschichtliches

Die IBR/IPV Infektion ist schon seit langem, wenn auch nicht namentlich, bekannt. Die Virusätiologie der bis dahin als Bläschenausschlag bekannten Erkrankung konnte 1928 durch Reisinger und Reimann nachgewiesen werden. 1954 benannten Mc Kercher und Mitarbeiter in USA eine von Schroeder und Moys 1954 beschriebene virale Erkrankung des Respirationstraktes als "infektiöse bovine Rhinotracheitis". 1957 wurde von Gillespie und Mitarbeiter nachgewiesen, daß es sich tatsächlich um dieselbe Erkrankung handelt. Der erste Nachweis für das Auftreten der IBR in Europa gelang 1960 durch Gründer und Mitarbeiter.

2. Verbreitung der IBR

Man kann davon ausgehen, daß die IBR heute weltweit verbreitet ist, wobei regional verschieden hohe Verseuchungsraten zu beobachten sind.

Dies erklärt sich einmal aus der Struktur des Rinderhandels. In Gebieten, in die relativ viele Tiere eingeführt werden, liegt der Verseuchungsgrad über dem Durchschnitt, weil relativ viele serologisch positive, jedoch klinisch unauffällige Tiere für eine rasche Verbreitung sorgen; in Gebieten, die kaum Tiere einführen, wie z.B. Oberfranken, ist ein wesentlich niedrigerer Grad der Durchseuchung festzustellen.

Zum zweiten kann die künstliche Besamung eine Rolle spielen. Wird Samen eines Bullen, der - eventuell wieder - unbemerkt zum Virusausscheider wird, kon-

zentriert in bestimmten Gebieten eingesetzt, so kann, auch über weite Entfernungen, eine relativ schnelle und umfangreiche Verbreitung die Folge sein.

In Frankreich sind ca. 11 % der Tiere serologisch positiv, wobei die Holsteiner und andere importierte Rassen neben den Mastrassen Charollais und Montbeliarde die höchste Verseuchung aufweisen. (Bauer 1984)

In Schottland wurden etwa 12 % serologisch positive Rinder nachgewiesen, wobei der Anteil unter den importierten (v.a. aus Schleswig-Holstein) am höchsten lag. (Bauer 1984)

In Österreich reagierten 4,2 % der untersuchten Rinder positiv. (Bauer 1984)

In Deutschland wurden in den letzten Jahren auf Landesebene verschiedene Untersuchungen durchgeführt.

Bei Untersuchungen in Rheinland-Pfalz wurden 1971 in 5 % der Fälle positive Reagenten gefunden.
(Nitschke et al.)

Frey und Mitarbeiter untersuchten im Jahre 1974 Herden in Niedersachsen und Schleswig-Holstein und fanden - regional verschieden - bis zu 41,8 % Reagenten.

Die von Rothschiuh 1980 im Rheinland durchgeführten Untersuchungen zeigten, daß 4,8 % der Tiere aus 22,1 % der untersuchten Bestände serologisch positiv waren.

Frost und Wagner fanden 1982 für Hessen eine Durchseuchung von 9,8 %. Hierbei war ein deutliches regionales Gefälle von Südhessen mit 13,6 % nach Nordhessen mit 5,4 % zu erkennen. Diese Ergebnisse bedeuten für Hessen eine fünffache Zunahme innerhalb von zehn Jahren.

Aus Niedersachsen liegen aus dem Jahre 1981 Zahlen von Liess vor, die besagen, daß 12,4 % der Tiere aus 20,9 % der Betriebe als positive Reagenten erfaßt wurden.

Bei Untersuchungen in Baden-Württemberg stellten Albrecht und Mitarbeiter 1985 fest, daß in sogenannten Problembeständen 41,5 % der Tiere aus 77 % dieser Bestände serologisch positiv waren. Bei im Rahmen der Leukoseuntersuchung beurteilten Proben ließen sich bei 16,7 % der Tiere aus 27,4 % der Betriebe Antikörper gegen das BHV 1 Virus nachweisen.

Für Bayern stellten 1980 Bauer und Mitarbeiter fest, daß die Durchseuchung bei 9,5 % der Tiere aus 21 % der Bestände lag. Dies bestätigt auch eine Untersuchung aus dem Jahre 1984 (Dempfle und Mitarbeiter), bei der ca. 10 % als Reagenten ermittelt wurden. Auch hier wurde eine regional stark unterschiedliche Durchseuchung beschrieben. Während in Oberfranken nur 1,3 % Reagenten ermittelt wurden, lag die Durchseuchung in Unterfranken bei 19,8 %, in manchen Landkreisen wurden noch höhere Werte ermittelt: Würzburg 28 %, Freising 48 %. Zwischen Nord- und Südbayern konnten keine gravierenden Unterschiede festgestellt werden.

3. Äthiologie und Epizootiologie

Der Erreger der IBR/IPV wird der Familie der Herpesviridae zugeordnet und zwar der Subfamilie der Alphaherpesviridae. Eine Aufteilung der Subfamilie in Genera ist noch nicht erfolgt. Benannt wurde das Virus als "bovines Herpesvirus Typ 1, BHV 1". Es besitzt eine unsegmentierte, lineare, doppelsträngige DNS, hat ein ikosaedrisches Nukleokapsid und eine lose anliegende zweischichtige Lipoproteinhülle, deren innere Schicht von der Kernmembran stammt. Die Synthese des BHV 1 findet im Zellkern statt.

Ein Hauptmerkmal des Virus ist, wie bei allen Herpesviren, die lebenslange Latenz in einem einmal infizierten Organismus.

Die Viren der IBR und der IPV lassen sich zwar unterscheiden, verhalten sich jedoch antigenetisch einheitlich. Sie sind inaktivierbar durch Virusdesinfektionsmittel für behüllte Viren.

Für die Übertragung spielt wahrscheinlich die direkte Übertragung die Hauptrolle. Sie erfolgt meist durch Tröpfcheninfektion auf aerogenem Weg. Jedoch kann die Infektion von vaginal infizierten Tieren durch Belacken auf den Respirationstrakt übertragen werden. Als Ansteckungsquelle kommen entweder erkrankte Tiere oder im Inkubationsstadium befindliche Tiere oder latent infizierte Tiere in Frage. Bei den letztgenannten kann die Ausscheidung durch den Streß der Umstallung oder eine etwaige Cortisonbehandlung plötzlich auftreten. Die Ausscheidung erfolgt also nicht kontinuierlich. Die erste Ausscheidungsphase nach der Infektion dauert ca. 2 bis 3 Wochen. Später kann die Ausscheidung durch den bereits erwähnten Streß - auch medikamenteller Art - provoziert werden.

(Mayr 1984, Mayr und Mitarbeiter 1985)



4. Klinisches Erscheinungsbild

Die Inkubationszeit beträgt in der Regel 2 bis 6 Tage, selten einige Wochen. Bei der häufigeren respiratorischen Form beginnt die Erkrankung mit einem Anstieg der Körpertemperatur, in schweren Fällen bis 42°C . Parallel dazu entwickelt sich seröser Nasenausfluß, Hyperämie des Flotzmaules und der Nasenschleimhaut. Bei in der Laktation befindlichen Tieren ist ein Absinken der Milchleistung zu beobachten. Im weiteren Verlauf kommt es zu Husten, zu Konjunktivitis mit Augenausfluß, daran anschließend, je nach Abwehrlage des Organismus, entweder zur Heilung oder zur weiteren Verschlechterung: Atemnot, eitrig werdender Nasenausfluß, Sistieren der Futteraufnahme mit Abmagerung sowie pustelartigen Erhebungen auf der Nasenschleimhaut, besonders auf der Nasenscheidewand, die sich zu grau-braunen krustösen Belägen ausdehnen können. Dies stellt ein ziemlich charakteristisches Symptom dar.

Bei Kälbern zeigt die Krankheit, bedingt durch bakterielle Sekundärinfektionen, oft einen schwereren Verlauf. Außerdem wird hier mitunter eine Meningoencephalitis beobachtet. Zunächst fällt Muskelzittern und schwankender Gang auf, später Kreisbewegung, Anlehnen, Opisthotonus, Salivation und Tremor. Hierbei ist in nahezu allen Fällen mit dem Tod zwischen dem 5. und 7. Tag zu rechnen.

Tragende Kühe, die sich infizieren, können abortieren, meist zwischen dem 5. und 8. Monat.

Die genitale Verlaufsform ist gekennzeichnet durch pustulöse Entzündungen, beim weiblichen Tier oft mit Vaginalausfluß. Bullen scheiden das Virus mit dem Samen aus, was im Rahmen der künstlichen Besamung ein Verbreitungsrisiko selbst über große Entfernungen darstellt.

(Mayr 1984)

5. Diagnosestellung

Die Diagnosestellung gelingt auf Grund des klinischen Bildes nicht mit letzter Sicherheit. Zur sicheren Diagnose ist eine Laboruntersuchung fast immer unerlässlich. Eine Möglichkeit stellt der direkte Virusnachweis dar, und zwar aus Augen- oder Nasensekret, aus Vaginal- oder Praeputialspülproben, aus Samenflüssigkeit oder auch aus Organen abortierter Früchte. Jedoch muß hierbei berücksichtigt werden, daß (durch die intermittierende Virusausscheidung) ein negativer Befund nicht beweisend für die IBR-Freiheit ist.

Eine schnellere und sicherere Methode ist der Antikörpernachweis im Serum, da Antikörper, wenn auch in schwankender Menge, mindestens noch ca. 14 Monate post infectionem nachgewiesen werden können. Hierfür eignen sich in erster Linie der Neutralisationstest und der ELISA.

6. Immunologie und Bekämpfungsmöglichkeiten

Das BHV 1-Virus induziert sowohl die Bildung neutralisierender Antikörper als auch eine zelluläre Immunität. Die Höhe des Immunstatus ist abhängig von der Schwere des Krankheitsverlaufes und davon, ob es sich um eine lokale oder generalisierte Verlaufsform handelt. Im letztgenannten Fall bildet sich eine belastbare Immunität aus. Die Antikörper erscheinen am 9. bis 12. Tag post infectionem und persistieren 14 bis 18 Monate. Vereinzelt konnten noch nach 4 Jahren Antikörper nachgewiesen werden (Chow 1972). Ähnlich stellen sich die Verhältnisse bei geimpften Tieren dar.

Ein wichtiger Gesichtspunkt, besonders im Hinblick auf die Bekämpfung, ist jedoch der, daß die natürlich oder durch Impfung erworbene Immunität zwar vor der Krankheit, nicht jedoch vor dem Haften der Infektion schützt.

Obwohl die IBR ein weltweites Problem darstellt, existiert noch kein einheitliches Bekämpfungsprogramm. Einzelne Länder unternehmen den Versuch einer Eindämmung. Hierfür gibt es verschiedene Möglichkeiten:

Die wirksamste Maßnahme wäre, alle Virusträger zu merzen. Dies ist jedoch aus wirtschaftlichen Gesichtspunkten nur dort möglich, wo eine relativ niedrige Verseuchungsrate (unter 10 %) herrscht. In anderen Fällen ist ein Programm nötig, das diesen Zustand herstellt (Mayr 1985). In Bayern wird derzeit ein freiwilliges Bekämpfungsprogramm durchgeführt, das dies zum Ziel hat.

In Betrieben mit akuten Krankheitsausbrüchen ist der Einsatz von Lebendimpfstoffen angezeigt, um den wirtschaftlichen Schaden zu begrenzen. Dazu ist allerdings auf Grund der Deckseuchenverordnung die Genehmigung durch das zuständige Veterinäramt notwendig. Als nächster Schritt sind die Tiere nach ca. 3 Monaten mit einem Impfstoff aus inaktivierten Erregern zu vakzinieren, was alle 6 Monate zu wiederholen ist. Die Nachzucht bleibt ungeimpft und ist möglichst getrennt zu halten.

In stark verseuchten Beständen (mehr als 80 % serologisch positiv) ist so zu verfahren, daß alle Tiere mit Impfstoff aus inaktivierten Erregern geimpft werden und zwar so, daß nach der ersten Impfung im Abstand von 4 Monaten die erste Wiederholungsimpfung erfolgt und im weiteren Verlauf alle sechs Monate nachgeimpft wird. In schwach bis mäßig verseuchten Beständen (20 %

bis 50 % serologisch positiv) werden die Reagenten geimpft.

Bei der geplanten Abschaffung von Tieren sind vor allem die serologisch positiven Tiere (auch die geimpften) zu berücksichtigen. Die halbjährlichen Wiederholungsimpfungen sowie regelmäßige jährliche Kontrollen sind solange durchzuführen, bis alle Tiere des Bestandes serologisch negativ sind.

Dann kann ein Bestand als IBR unverdächtig eingestuft werden.

Im weiteren Verlauf ist größter Wert auf den Schutz vor Neueinschleppung zu legen. Hier verdient neben der allgemeinen Hygiene der Zukauf von Tieren größte Beachtung. Bei Neueinstellung von Tieren sind nur serologisch negative Rinder auszuwählen und diese zuerst getrennt von den anderen zu halten und erst nach einer serologisch negativ verlaufenen Kontrolluntersuchung mit den anderen Tieren in Kontakt zu bringen. Diese Kontrolluntersuchung darf nicht unmittelbar nach dem Kauf stattfinden, damit auch Tiere im Inkubationsstadium sicher erfaßt werden. Weiterhin sollte darauf geachtet werden, Tiere nur aus nachweislich IBR-freien Beständen zu erwerben. Generell ist festzustellen, daß alle Impfprogramme die Erkrankung nicht tilgen, sondern nur den wirtschaftlichen Schaden begrenzen können.

Bei der Verwendung von Lebendimpfstoffen wird das schon vorhandene Feldvirus nicht verdrängt, (Nettleton und Sharp 1980). Außerdem kommt es zur Vermehrung und Ausscheidung des Impfvirus, was unter Umständen eine Gefahr darstellen könnte, denn es wäre denkbar, daß das Impfvirus in Beständen mit einem schlechten Immunstatus durch rasche Tierpassagen eine Virulenzsteigerung erfahren könnte (Appel 1978, Clark 1978). Deshalb sollte Lebendimpfstoff nur nach strenger Indikation angewandt werden.

Hier liegen die Verhältnisse bei Impfstoffen aus inaktivierten Erregern wesentlich günstiger. Zum einen verhindern sie Erkrankungen ebenso wie Lebendimpfstoffe (Straub 1977), zum anderen vermindert sich die Ausscheidung des Feldvirus sowohl der Menge als auch der Dauer nach (Mc Kercher et al. 1971, Straub 1977).

Damit läßt sich sagen, daß die Impfung von latent infizierten Tieren mit Impfstoff aus inaktiviertem Virus das Ansteckungsrisiko für nicht infizierte Tiere deutlich senkt, was von Mayr und Mitarbeiter 1985 nachgewiesen werden konnte. Diese Art der Impfung verhindert nicht nur wirtschaftliche Schäden, sondern ist durchaus geeignet, die weitere Ausbreitung zu begrenzen und somit als ein Teil der zur Erradikation durchzuführenden Maßnahmen anzusehen.

Als weitere mögliche - zumindest flankierende - Maßnahme sei noch die Paramunisierung erwähnt. Der Einsatz eines Paramunitätsinducers könnte bei neueingestellten Tieren oder bei der durch die Umstallung (Streß) geschwächten Immunitätslage die Ansteckungsgefahr mindern.

Abschließend sei am Beispiel der Schweiz erwähnt, daß eine Seuchentilgung möglich ist. Dort werden alle Tiere aller Bestände serologisch untersucht und die Bestände, in denen Reagenten vorhanden sind, gesperrt. In freie Bestände dürfen nur Tiere aus freien Beständen verbracht werden. Auf Viehmärkte dürfen nur Tiere aus freien Beständen aufgetrieben werden. Die Ausmerzung der Reagenten kann staatlicherseits angeordnet werden. (Riggenbach 1985)

7. Nachweismethoden unter der Berücksichtigung ihrer Eignung zur Diagnose der IBR

Als erste Methode wäre hier der direkte Virusnachweis zu nennen. Die Virusisolierung z.B. auf Zellkulturen fetalen Kälberlungengewebes oder auf Zelllinien bereitet keine nennenswerten Schwierigkeiten (Bauer 1984, Mayr et al. 1985), ebenso wenig der Nachweis mittels Immunfluoreszenz. Das Problem dieser Methode liegt darin, daß sie nur im positiven Fall beweisend ist, weil die Virusausscheidung nicht kontinuierlich, sondern intermittierend erfolgt. Damit ist diese Methode für die Bestandsuntersuchung weniger geeignet.

Somit gewinnt für die Bestandsuntersuchung der serologische Nachweis von Antikörpern gegen das BHV 1 größere Bedeutung, da die Antikörpermenge wesentlich kontinuierlicher ist. Von den üblichen Methoden wie Neutralisationstest, Hämagglutinationstest, Hämagglutinationshemmungstest, Komplementbindungsreaktion und Immunfluoreszenz hat für die IBR-Diagnostik wegen der relativ niedrigen Antikörpertiter nur der Neutralisationstest größere Bedeutung erlangt (Kretschmar 1977, Bauer 1984). Er gilt bis heute, im Mikrotiter-Verfahren durchgeführt, als die Methode der Wahl.

Seit einiger Zeit existiert nun ein für die IBR-Diagnose modifiziertes System, das seit Anfang der siebziger Jahre als enzyme-linked-immuno-sorbent-assay kurz ELISA bekannt ist.

Seit der Entwicklung des ELISA im Jahre 1971 durch Engvall und Perlmann erfreut er sich sowohl in der Humanmedizin als auch in der Veterinärmedizin großer Beliebtheit.

So wurde 1981 über die Einsatzmöglichkeit des ELISA zur Diagnose der Aujeszky'schen Krankheit der Schweine berichtet (Forschner et al.)

Charan und Gautam berichten 1984 über mehrere Publikationen, in denen der diagnostische Einsatz des ELISA bei feliner infektiöser Peritonitis, Katzenleukose, Rinderpest, Afrikanischer Schweinepest und anderen Viruserkrankungen dargestellt wird.

Den Einsatz in der IBR-Diagnostik beschrieb zuerst Payment im Jahre 1979. Zur Beschichtung der Mikrotiterplatten wurde ein IBR Feldvirusstamm benutzt, der auf Rinderhodenzellkultur angezüchtet und aus dem die Virusfraktion durch mehrmaliges Einfrieren, Auftauen und Zonen-Zentrifugation im Saccharosegradienten gewonnen wurde. Als Konjugat fand ein mit Peroxidase gekoppeltes Anti-Rinder-Immunglobulin G Verwendung. Die Genauigkeit dieses Testes war im Vergleich zum Serum-Neutralisationstest gut, es wurde jedoch festgestellt, daß durch ungereinigte Zellextrakte hohe unspezifische Reaktionen ausgelöst wurden.

Die von anderen Wissenschaftlern durchgeführten Versuche belegen ebenfalls, daß der ELISA, verglichen mit anderen Verfahren wie Komplementbindungsreaktion oder Serumneutralisationstest, ebensogute - oft noch bessere - Ergebnisse liefert (Herring 1980, Bolton 1981, Collins 1985, Schilow 1985, Cho und Bohac 1985, Moennig 1981).

Eine weitere Einsatzmöglichkeit in der IBR-Diagnostik bietet sich für den ELISA bei der Untersuchung von Bestandsmilchproben. Dieses Verfahren stellt eine gute Orientierungsmethode dar. Die Proben könnten bei routinemäßigen Sammelmilchproben - wie zur Inhaltsbestim-

·mung der Milch- mitgenommen werden. Im Falle einer "fraglichen" oder "positiven" Reaktion im ELISA wird dann eine Einzeltieruntersuchung durchgeführt. Es muß jedoch berücksichtigt werden, daß bei diesem Verfahren die Jungtiere bzw. die trocken stehenden Kühe nicht bzw. nur mit zeitlicher Verzögerung erfaßt werden. Daher ist eine zweimalige Untersuchung im Abstand von ca. 3 Monaten nötig. (Forschner 1986)

8. Vorteile des ELISA

Der ELISA bietet eine Reihe von Vorteilen gegenüber anderen serologischen Verfahren, die im folgenden aufgeführt werden. (Forschner et al. 1981)

Er stellt als "Totsystem" gegenüber dem Serumneutralisationstest als "Lebenssystem" deutlich geringere Anforderungen an die Qualität der Proben. So beeinträchtigt z.B. Hämolyse die Messung nicht, was im SNT jedoch der Fall ist. Ein weiterer Vorteil betrifft den Zeitaufwand. Er ist im ELISA wesentlich geringer und somit liegen die Ergebnisse wesentlich schneller vor. Ein dritter erheblicher Vorteil ist die Anforderung an die Personalqualität. Die den Test durchführenden Personen müssen zwar sehr zuverlässig und genau arbeiten, sie müssen jedoch nicht die serologischen Kenntnisse haben, die zur Durchführung des SNT nötig sind.

Weiterhin ist für die Durchführung des ELISA kein vollausgestattetes Viruslabor notwendig, so daß hier keine Kapazitäten für andere Untersuchungen blockiert wären. Die Kosten sind - verglichen mit denen, die dem SNT zugrunde liegen - geringer. Ein weiterer Vorteil liegt darin, daß mit dem ELISA wesentlich größere Probenmengen (die auch zu erwarten sind) bearbeitet werden können

als mit dem SNT, wenn eine gewisse apparative Ausrüstung vorhanden ist.

9. Problematik des ELISA

Neben den Vorteilen bietet der ELISA auch einige Probleme, die die Interpretation der gemessenen Werte erschweren können.

9.1. Hintergrundreaktionen

Ein möglicher Störfaktor für die Beurteilung ist das Auftreten sogenannter Hintergrundreaktionen (Geller et al. 1981). Hierfür kommen mehrere Gründe in Frage:

9.1.1. Ungenügende Entfernung des Enzymkonjugates: Dies kann durch Fehler beim Waschvorgang bzw. durch ungenügendes Waschen bedingt sein. Daher ist auf mehrmaliges sorgfältiges Waschen zu achten.

9.1.2. Unspezifische Adsorptionen durch elektrostatische Kräfte: Dies stellt ein schwieriges Problem dar, da schon Veränderungen der Luftfeuchtigkeit oder normale Handhabung der Kunststoffplatten zur elektrischen Aufladung führen können. Es werden verschiedene Maßnahmen beschrieben, um dieses Problem zu beseitigen oder zumindest zu vermindern:

Als erstes wäre der Zusatz eines Detergens zu nennen. Dies verhindert aber nicht nur unerwünschte, sondern auch erwünschte Bindungen, so daß man dann die Enzymkonjugatkonzentration erhöhen müßte, um gute Ergebnisse erzielen zu können. Da jedoch die Enzymkonjugate relativ teuer sind, bedeutet dies bei großen Probenmengen eine erhebliche Kostensteigerung.

Als zweite Möglichkeit bietet sich die Nachbeschichtung mit einem anderen Protein an, um mögliche Bindungsstellen an der Materialoberfläche zu "besetzen"

und damit zu blockieren. Bei Vergleichsuntersuchungen konnten jedoch keine besseren Ergebnisse erzielt werden (Geller und Kühne 1980).

Durch Inkubation in der feuchten Kammer könnte die unterschiedliche elektrostatische Aufladung durch die gleichmäßige Luftfeuchtigkeit vermieden werden. Es ist jedoch darauf zu achten, daß im Brutschrank keine Materialien aus Kunststoff verwendet werden, da diese durch ihre gute elektrostatische Aufladbarkeit den positiven Effekt der feuchten Kammer zerstören würden.

- 9.1.3. Rückstände von Glutaraldehyd im Konjugat: Dies bewirkt eine dauernde Weitervernetzung. Konjugat lagert sich so an die nicht oder mit einem anderen Protein beschichtete Oberfläche an. Die Ursache hierfür ist in einer unzureichenden Reinigung des Konjugates zu sehen.

9.2. Weitere Fehlermöglichkeiten

Eine weitere Fehlermöglichkeit liegt auf der personellen und apparativen Seite, wie Pipettieren oder Meßfehler. Da ELISA ein sehr empfindliches System darstellt, genügen schon kleine Fehler, um das Ergebnis zu verfälschen.

Die Inkubationsdauer und die Inkubationstemperatur sind genau einzuhalten und zu überprüfen.

Die Waschvorgänge sind genau durchzuführen und dabei sind besonders die Standzeiten einzuhalten.

Die exakte Menge der Substratlösung und die Stopplösung ist außerordentlich wichtig, da schon geringe Volumenunterschiede eine Änderung der Schichtdicke und damit einen Fehler bei der photometrischen Messung zur Folge haben.

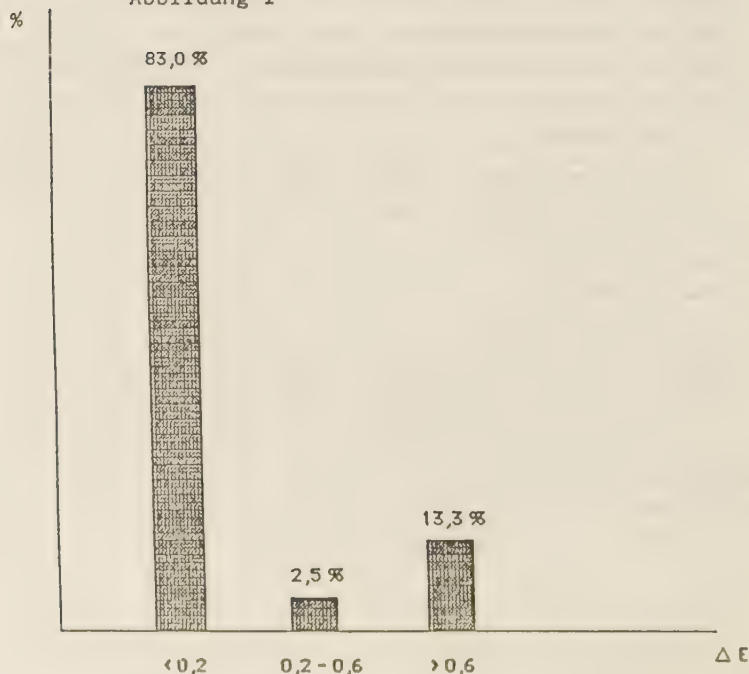
III. Eigene Untersuchungen

1. Material, Methode und Beurteilungsmaßstäbe

1.1. Das ELISA-System

Am Landesuntersuchungsamt für das Gesundheitswesen/ Nordbayern in Nürnberg wurden im Jahre 1986 insgesamt 128.029 Proben von Rindern aus Nordbayern auf das Vorhandensein von IBR-Antikörpern untersucht. Als Untersuchungsmethode fand dabei der ELISA "Enzygnost - IBR" der Behring-Werke, Marburg, Anwendung. Hierbei gelang bei 17.149 (13,3 %) der Proben der Nachweis von IBR-Antikörpern, bei 106.362 (83,0 %) wurden keine Antikörper gefunden. Bei 3.269 (2,5%) Proben konnte keine eindeutige Aussage "positiv" oder "negativ" gemacht werden, diese Proben wurden als "fraglich" ($\pm$) beurteilt. (s. Abb. 1)

Abbildung 1



Bei den als "fraglich" beurteilten Proben wurde der einsendende Tierarzt aufgefordert, nach mindestens 3 Wochen eine Blutprobe zur Wiederholungsuntersuchung einzusenden. Brachte die zweite Untersuchung wiederum ein fragliches Ergebnis, so wurde die Blutprobe im Serumneutralisationstest (SNT) untersucht.

Von den 3.269 fraglichen Proben wurden 137 Proben nach dem Prinzip der Zufälligkeit ausgewählt, bei denen der Zeitpunkt und das Ergebnis der ersten und zweiten Probennahme sowie die Ohrmarkennummer und der Besitzer bekannt waren. Hierzu ist noch anzumerken, daß bei weitem nicht von allen "fraglichen" Tieren eine Zweitprobe eingeschickt wurde, sei es, weil das betr. Tier inzwischen verkauft oder geschlachtet wurde, sei es aus anderen Gründen. Weiterhin wurden Proben im Abstand von mehreren Monaten eingesandt oder die Anträge waren so ausgefüllt, daß diese nicht in die Auswertung eingehen konnten. Außerdem wurden noch 183 "fragliche" Proben untersucht, von denen man zwar wußte, daß es sich um Zweitproben handelt, jedoch keine Zuordnung zu einer Erstprobe möglich war. Diese wurden dann im SNT als positiv oder negativ beurteilt.

Im folgenden soll kurz das ELISA-Verfahren der Behring-Werke dargestellt werden.

Eine Testplatte besteht aus 6 Riegeln mit jeweils 2 x 8 Reaktionsvertiefungen, wobei eine Reihe mit spezifischem Antigen, die andere mit Kontrollantigen beschichtet ist.

- 1.1.1. Einpipettieren je einer Serumprobe in je eine Reaktionsvertiefung mit Antigen bzw. Kontrollantigen.
 - ° In dem Fall, daß es sich um homologe Reaktionspartner handelt, kommt es zur Antigen-Antikörperreaktion.

Diese Reaktion findet im Brutschrank bei 37° C während 60 Minuten statt.

Anschließend werden die nicht gebundenen Antikörper ausgewaschen.

- 1.1.2. Im nächsten Schritt wird eine Enzymkonjugatlösung (alkalische Phosphatase gekoppelt an Antirinder-Immunglobuline) zugegeben und wie oben in der feuchten Kammer inkubiert. Hat eine Antigen-Antikörperreaktion stattgefunden, wird das Enzymkonjugat gebunden, das überflüssige nicht gebundene wird wieder ausgewaschen.
- 1.1.3. Bei der nun folgenden Substratzugabe wird dieses durch das Antikörpergebundene Enzym hydrolysiert (1 Stunde bei 37° C), was durch eine Farbreaktion erkennbar ist.
- 1.1.4. Nach der vorgeschriebenen Inkubationsdauer wird die Reaktion durch Zugabe von NaOH gestoppt und die Farbreaktion innerhalb einer Stunde bewertet.
- 1.1.5. Außerdem wird zur Überprüfung in drei Reaktionsvertiefungspaaren einer 96 cups enthaltenden Platte ein von den Behring-Werken mitgeliefertes "positives Kontrollserum" mitgeführt, daß in einem bestimmten Meßbereich liegen muß.

Die Bewertung erfolgt photometrisch, wobei die Extinktion der Vertiefung mit Kontrollantigen von der Extinktion derjenigen mit spezifischem Antigen subtrahiert wird.

$$\Delta E = E_{\text{Antigen}} - E_{\text{Kontroll-Antigen}}$$

Nun geben die Behring-Werke an, daß für alle Werte $\Delta E \geq 0,2$ die Reaktion positiv zu bewerten ist, d.h. Antikörper als nachgewiesen gelten.

Die Praxis hat nun jedoch gezeigt, daß es nicht immer möglich ist, die Bewertungsgrenze so scharf zu ziehen. So kamen die Untersuchungsämter, die mit dem System "Enzygnost-IBR" arbeiten, überein, eine fragliche Zone zwischen $\Delta E = 0,2$ und $\Delta E = 0,6$ zu schaffen.

1.2. Der Serumneutralisationstest

Der Neutralisationstest beruht auf dem Nachweis von virusneutralisierenden Antikörpern im Serum. Hierzu wird das antikörperhaltige Serum mit einer Virussuspension zusammen inkubiert. Sind Virus und Antikörper homolog, so kommt es zu einer Bindung und Neutralisation des infektiösen Virus. Anschließend wird das Reaktionsgemisch auf ein für das Virus empfängliches Wirtssystem übertragen und auf das Auftreten eines virusspezifischen zytopathischen Effektes untersucht. Der Test wurde in Mikrotiterplatten mit flachen Böden durchgeführt. Die Bindung zwischen 25 μ l einer ca. 100 KID₅₀ enthaltenden Virussuspension und 25 μ l des zu untersuchenden Serum fand 24 Stunden bei 37° C statt. Anschließend wurden 50 μ l einer ca. 100.000 Zellen enthaltenden Suspension der Rinderzelllinie MDBK zugegeben. Diese wuchs nach ca. 24 Stunden zu einem Zellrasen aus, der dann drei Tage lang auf das Auftreten eines virusspezifischen zytopathischen Effektes beobachtet wurde. Die Bebrütung fand bei 37° C in einer 5 % CO₂ enthaltenden Atmosphäre statt.

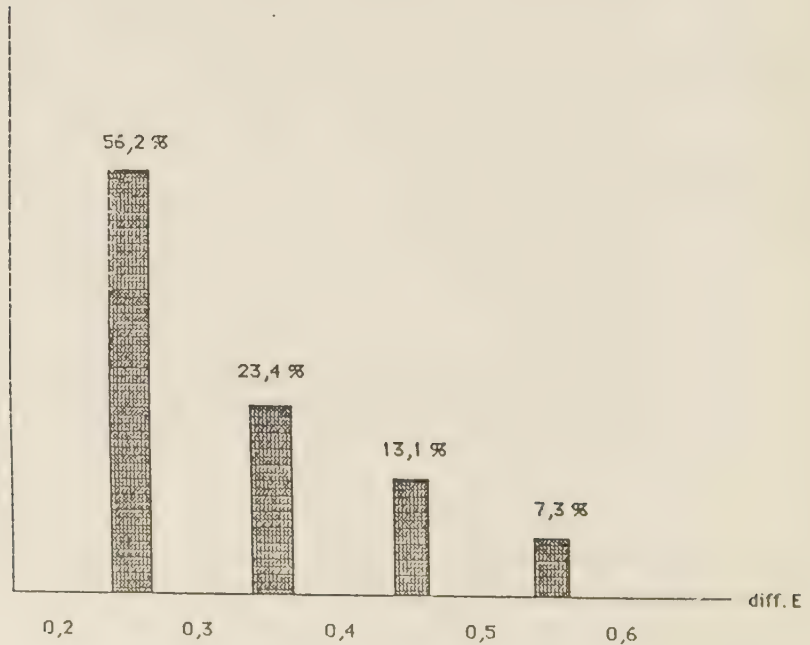
In jedem Ansatz lief eine Titration des verwendeten Testvirus, ein bekanntes positives Kontrollserum sowie unbeimpfte Zellkontrollen mit.

2. Ergebnisse

2.1. Verteilung der Erstproben im fraglichen Bereich

Beim Vergleich der Meßwerte von 137 Erstproben mit fraglichem Ergebnis konnte festgestellt werden, daß die größte Zahl der Proben nämlich 79,6 % im Bereich zwischen $\Delta E = 0,2$ und $\Delta E = 0,4$ zu finden ist, und hiervon wiederum 56,2 % ($n=77$) im Bereich $0,2 - 0,3$ und 23,4 % ($n=32$) im Bereich $0,3 - 0,4$ liegen. Auf den Bereich $0,4 - 0,5$ entfielen 13,1 % ($n=18$), und im Bereich $0,5 - 0,6$ bewegten sich nur noch 7,3 % ($n=10$). (Siehe Abb. 2)

Abbildung 2: Verteilung der fraglichen Werte
für 137 Tiere



Diese Stichprobe läßt eine Hochrechnung auf die Gesamtheit der fraglichen Proben zu. Hierbei ist allerdings - wie bei allen Stichproben - ein gewisser Stichprobenfehler zu berücksichtigen. Dieser sei anhand der Abb. 2 etwas näher erklärt.

Generell verhält es sich so, daß der Stichprobenfehler umso größer ist, je kleiner die Zahl der in der Stichprobe vorhandenen Probanden ist. Dieser Stichprobenfehler läßt sich nun in einem bestimmten Vertrauensbereich mit einer gewissen Irrtumswahrscheinlichkeit bestimmen, was bedeutet, daß sich die Werte mit einer bestimmten Wahrscheinlichkeit in einem gewissen Bereich bewegen.

Hier sei nun eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p = 5\%$ angenommen, das heißt, daß sich die Werte zu 95% in dem jeweiligen Vertrauensbereich bewegen.

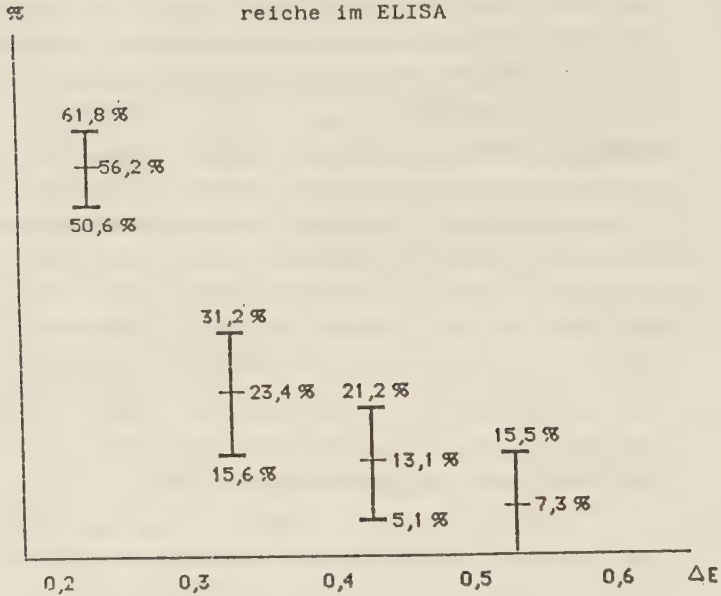
Dieser Bereich ist um so größer, je weniger Proben untersucht wurden. So beträgt die Streubreite im Bereich $0,2 - 0,3$ bei $n=77 \pm 5,6\%$, im Bereich $0,3 - 0,4$ bei $n=32 \pm 7,8\%$, im Bereich $0,4 - 0,5$ bei $n=18 \pm 8,1\%$ und im Bereich $0,5 - 0,6$ bei $n=10 \pm 8,2\%$.

Dies ist in Abbildung, 3 dargestellt, wobei der Mittelwert den Prozentwert der Stichprobe darstellt. Die Berechnung der oberen und der unteren Grenze erfolgte nach der Formel

$$sp = \pm \sqrt{\frac{P \times (100-P)}{n}}$$

Dabei bedeutet sp die prozentuale Abweichung, P die Prozentzahl der Stichprobenhäufigkeit und n die Anzahl der Beobachtungen, aus denen P berechnet wurde.

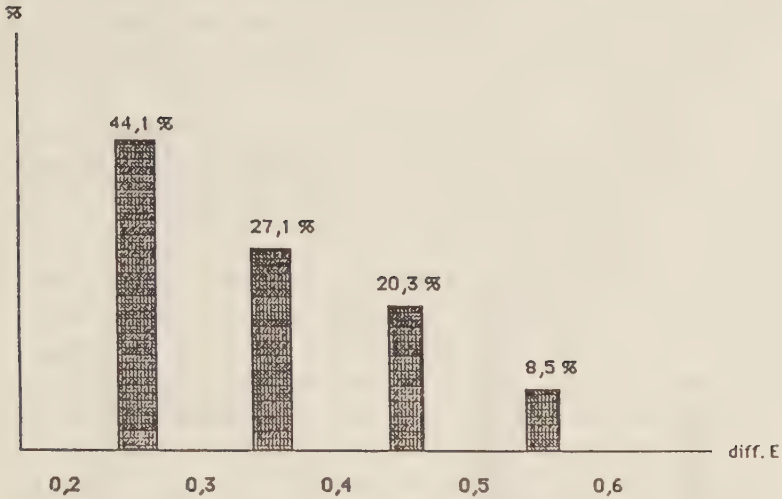
Abbildung 3: Vertrauensgrenzen der prozentualen Verteilung der Proben auf die einzelnen Meßbereiche im ELISA



2.2. Verteilung der fraglichen Werte für 80 Zweituntersuchungen

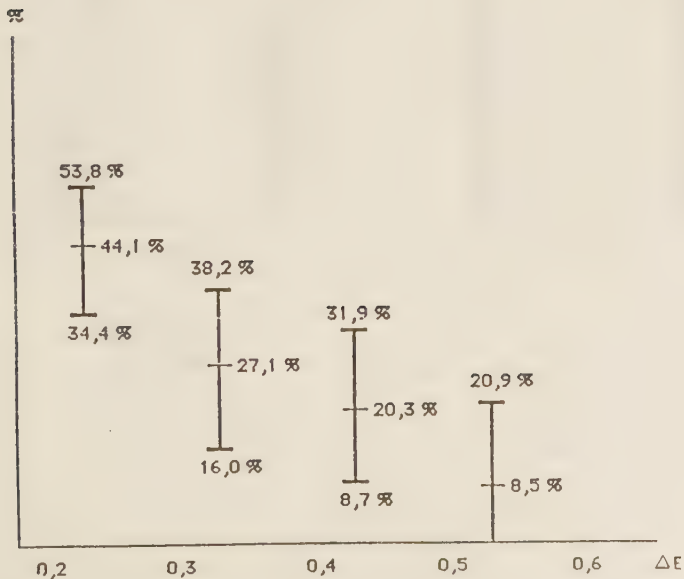
Von den 137 Erstproben waren bei der zweiten Untersuchung noch 80 Proben im fraglichen Bereich des ELISA, das sind 58,4 %. Die anderen 41,6 % waren eindeutig positiv oder negativ. Auch hier zeigt sich wieder eine ähnliche Verteilung, daß heißt eine Häufung im Bereich 0,2 - 0,4, während der Bereich 0,4 - 0,6 nur schwach vertreten ist. (Siehe Abb. 4)

Abbildung 4: Prozentuale Verteilung der fraglichen Werte für 80 zweituntersuchte Tiere



Hierbei ist ebenfalls der Stichprobenfehler zu berücksichtigen. Er ist hier aufgrund der kleineren Stichprobe relativ groß, aber es ist trotzdem noch sehr gut der Trend zu erkennen. (Siehe Abb. 5)

Abbildung 5: Vertrauensgrenzen zu Abbildung 4

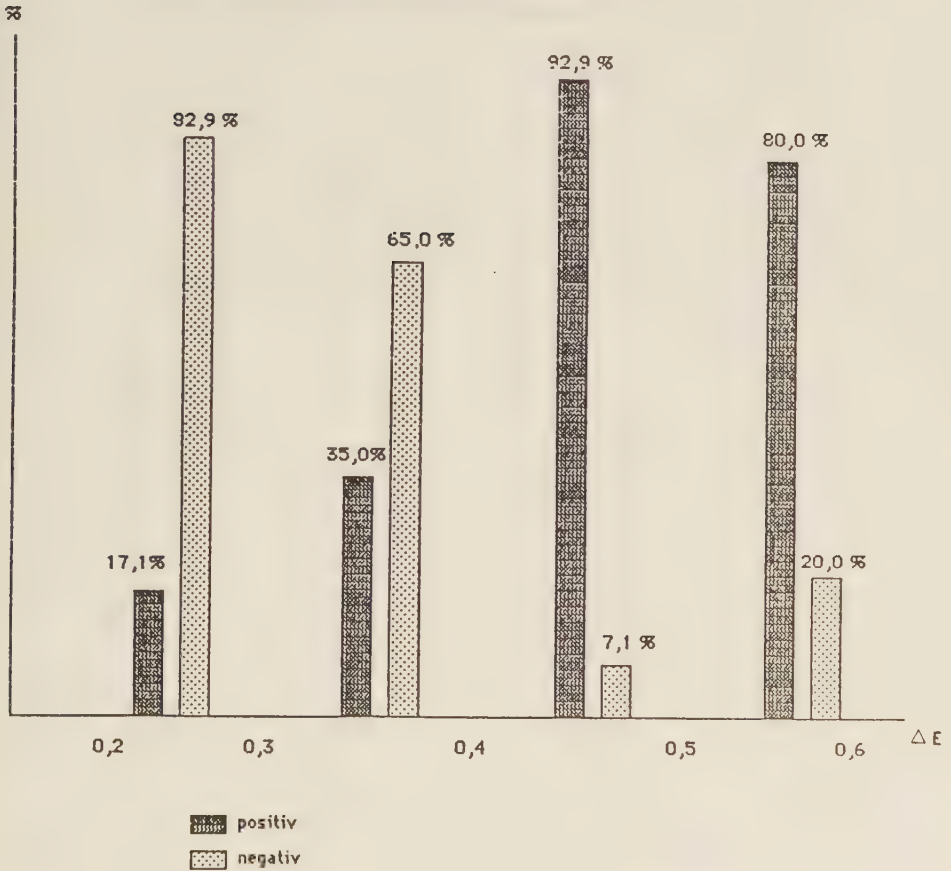


2.3. Verteilung der im SN-Test positiven bzw. negativen Proben nach ihren Werten bei der Erstuntersuchung im ELISA

Im SN-Test wurden die 58,4 % der Erstuntersuchungen beurteilt, die auch bei der Zweitprobe im ELISA fraglich waren. Es handelte sich um 80 Proben.

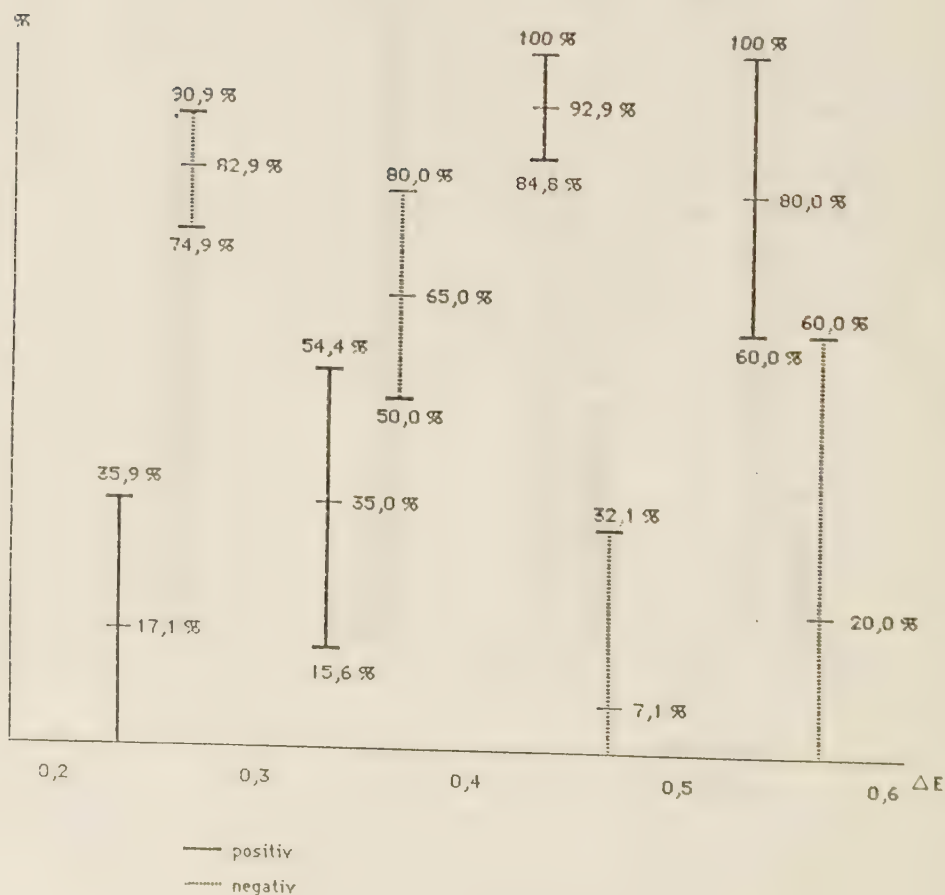
Mit steigendem ΔE war eine deutliche Zunahme der positiv zu beurteilenden Proben festzustellen. Zwischen ΔE von 0,2 - 0,3 waren 17,1 % positiv, zwischen 0,3 - 0,4 35 %, zwischen 0,4 - 0,5 92,9 % und zwischen 0,5 - 0,6 80 %. Umgekehrt war bei den im SNT negativ beurteilten eine deutliche Abnahme festzustellen. Die Prozentzahlen lagen bei 82,9 % für den Bereich 0,2 - 0,3, bei 65 % für 0,3 - 0,4, bei 7,1 % für 0,4 - 0,5 und bei 20 % für 0,5 - 0,6. Bei den Werten im Bereich 0,5 - 0,6 ist allerdings zu berücksichtigen, daß durch die geringe Anzahl ($n=5$) schon ein Tier mit 20 % zu Buche schlägt, was die Aussagekraft dieser Zahlen erheblich herabsetzt. (Siehe Abb. 6)

Abbildung 6: Prozentuale Verteilung im SN-Test
positiver/negativer Proben



Die Vertrauensbereiche dieser Prozentwerte sind in Abbildung 7 dargestellt.

Abbildung 7: Vertrauensgrenzen der Prozentsätze der im SN-Test positiven bzw. negativen Proben



2.4. Verteilung der im ELISA positiven bzw. negativen Proben nach ihren Werten bei der Erstuntersuchung im ELISA

Bei der Zweituntersuchung im ELISA brachten 41,6 %, das sind 57 Proben, ein positives bzw. negatives Ergebnis. Der Anteil der positiven Proben nimmt mit steigendem ΔE bei der Erstuntersuchung zu, und zwar lag der Anteil für ΔE von 0,2 - 0,3 bei 11,1 %, für ΔE 0,3 - 0,4 bei 25 %, für ΔE 0,4 - 0,5 ebenfalls bei 25 % und für ΔE 0,5 - 0,6 bei 60 %. Im selben Maß wie der Anteil der positiven Proben zunahm, ging der Anteil der negativen zurück, und zwar von 88,9 % im Bereich 0,2 - 0,3, über 75 % in den Bereichen 0,3 - 0,4 und 0,4 - 0,5 und auf 40 % im Bereich 0,5 - 0,6. Dies ist in Abb. 8 dargestellt, die Vertrauensgrenzen für diese Prozentzahlen in Abb.9.

Abbildung 8: Prozentuale Verteilung der in der Testunter-
suchung im ELISA positiv, negativ bewerteten
Proben im Vergleich zu den ΔE -Werten der
Tryptuntersuchung

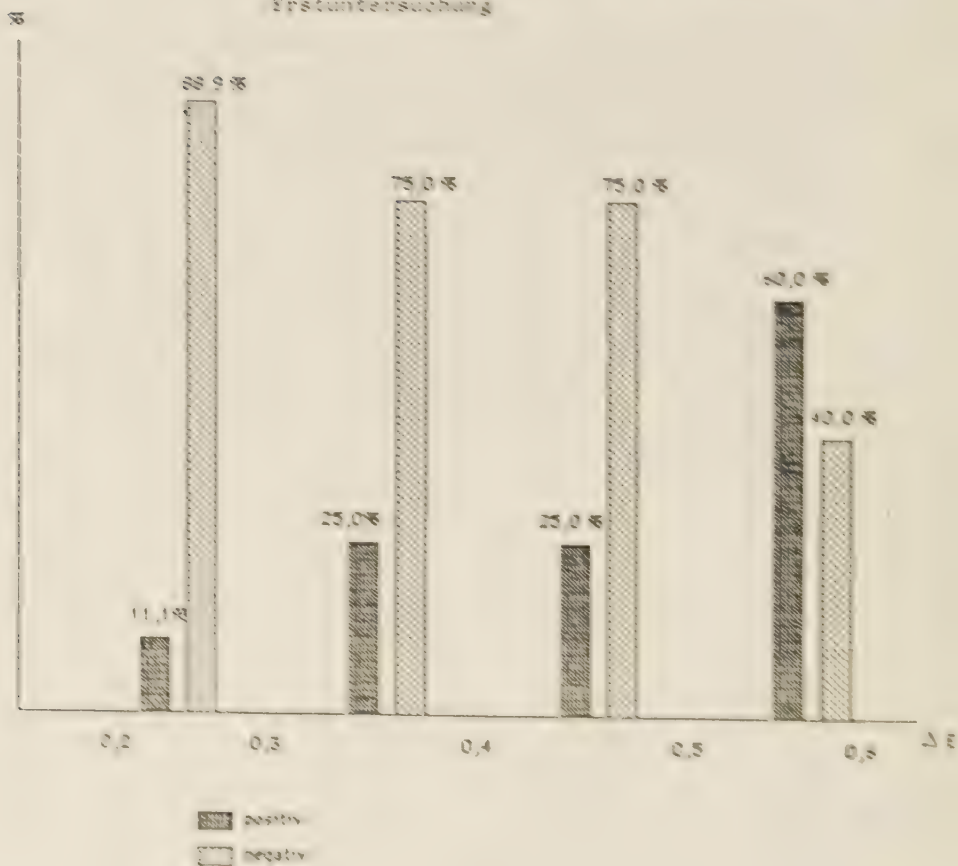
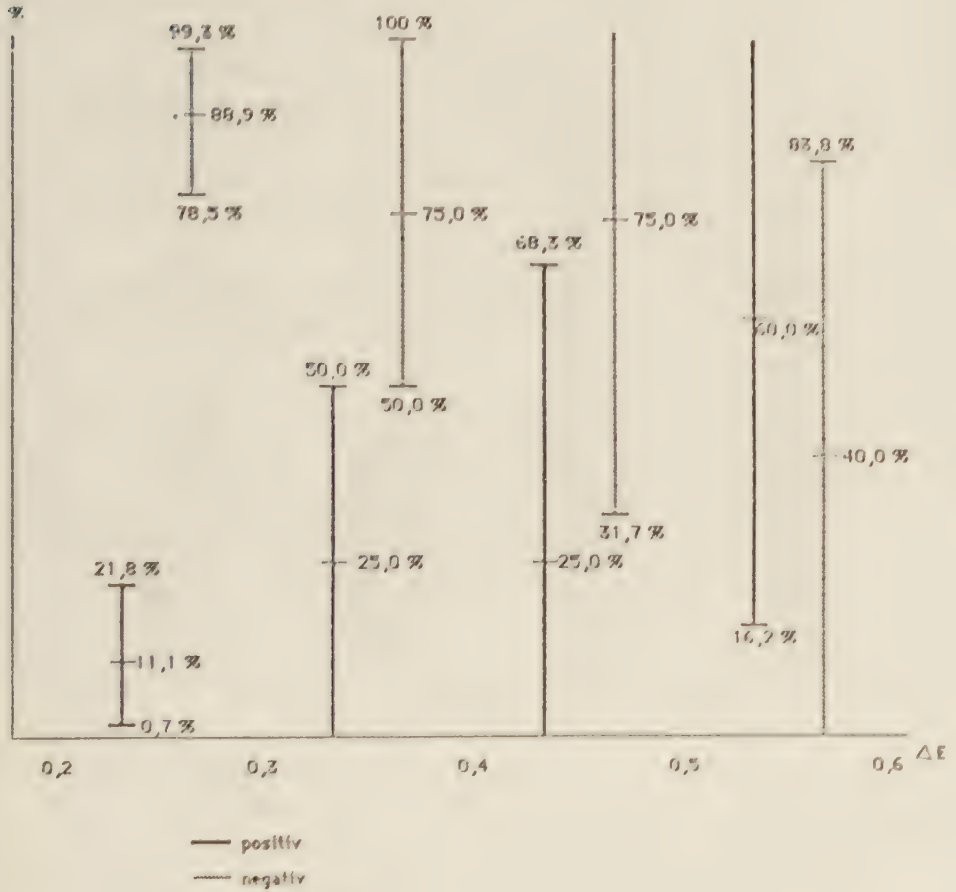


Abbildung 9: Vertrauensgrenzen der Prozentsätze der bei der Zweituntersuchung im ELISA positiv bzw. negativ beurteilten Proben



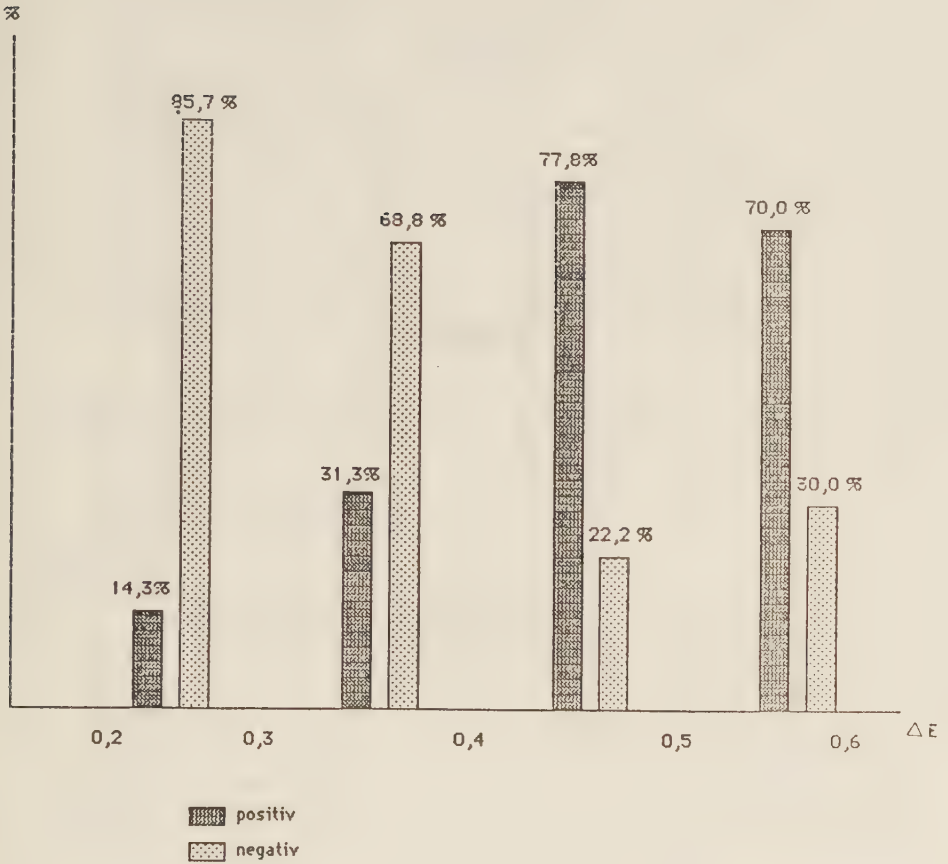
2.5. Verteilung der in der Endbeurteilung positiven bzw. negativen Proben nach ihren Werten bei der Erstuntersuchung im ELISA

Hierbei sind alle 137 nachuntersuchten Proben berücksichtigt, also sowohl diejenigen, die bei der Zweituntersuchung im ELISA klar positiv oder negativ waren, als auch die, die im ELISA zweimal fraglich reagierten und im SNT beurteilt werden mußten. Es ist deutlich erkennbar, daß mit steigendem ΔE in der Erstuntersuchung im ELISA die Zahl der positiven Proben ansteigt, die der negativen dagegen abfällt.

Im Bereich 0,5 - 0,6 ist zu berücksichtigen, daß sich durch die kleine Zahl schon eine Probe mit 10 % niederschlägt.

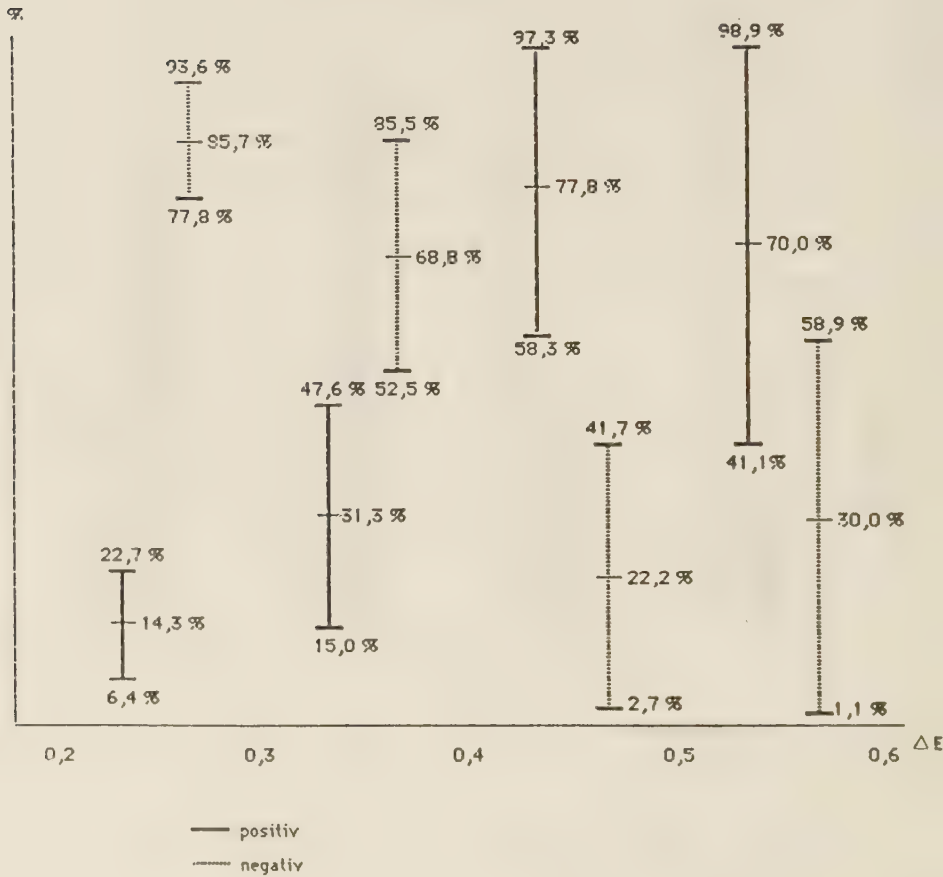
Im Bereich ΔE von 0,2 - 0,3 waren 85,7 % negativ und 14,3 % positiv, zwischen 0,3 und 0,4 68,8 % negativ und 31,3 % positiv und zwischen 0,4 und 0,5 waren 22,2 % negativ und 77,8 % positiv. Im Bereich zwischen 0,5 und 0,6 waren 30 % negativ und 70 % positiv, das entspricht absolut 3 bzw. 7 Tieren. (Siehe Abb. 10)

Abbildung 10: Verteilung der Endbeurteilung für die ΔE -Bereiche der Erstuntersuchung



Der Vertrauensbereich der Prozentsätze ist in Abb. 11 dargestellt.

Abbildung 11: Vertrauensbereich der Verteilung der Endbeurteilung für die ΔE -Bereiche der Erstuntersuchung



2.6. Verteilung der fraglichen Werte für 183 Tiere, bei denen nur die Zweituntersuchung gewertet werden konnte.

Hier sind 183 im ELISA untersuchte Proben berücksichtigt, bei denen zwar bekannt war, daß es sich um Zweitproben handelt, jedoch keine Zuordnung zu bestimmten Erstproben möglich war. Bei diesen wurde dann zur Endbeurteilung ein SNT durchgeführt. Diese Proben verteilten sich im fraglichen Bereich folgendermaßen:

Auf den Bereich ΔE 0,2 - 0,3 entfielen 39,9%, das entspricht 73 Tieren. Im Bereich 0,3 - 0,4 lagen 25,7 %, also 47 Tiere. Im Bereich 0,4 - 0,5 bewegten sich 19,7 %, das heißt 36 Tiere. Auf den Bereich 0,5 - 0,6 verteilten sich 14,8 % entsprechend 27 Tiere. (Siehe Abb. 12)

Die Vertrauensgrenzen der Prozentsätze sind in Abb. 13 dargestellt.

Abbildung 12: Verteilung der als fraglich beurteilten Werte für 183 im ELISA zweituntersuchter Tiere

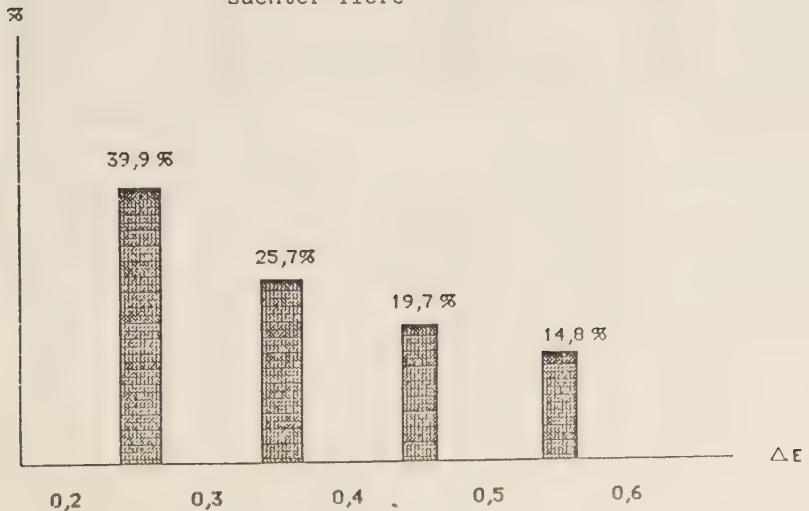
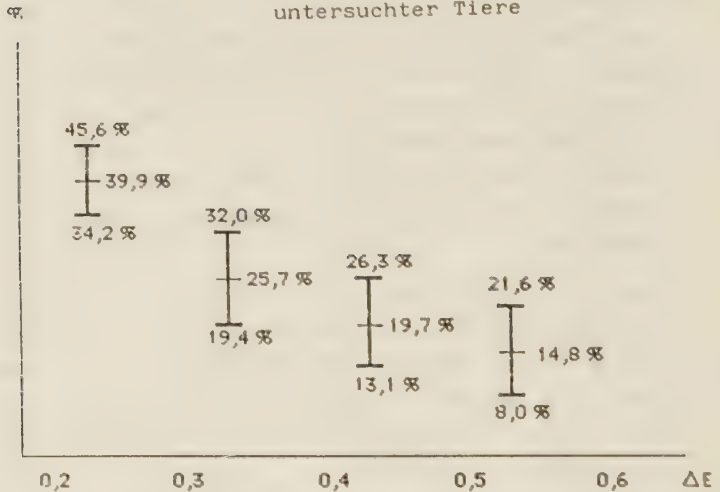


Abbildung 13: Vertrauensgrenzen zu Abb. 12:
Verteilung der als fraglich beurteilten Werte für 183 im ELISA zwei-
untersuchter Tiere



2.7. Verteilung der Werte im ELISA der in der Endbewertung positiven bzw. negativen Proben, bei denen nur die Zweituntersuchung gewertet werden konnte.

Da die unter 2.6. aufgeführten Proben alle auf Grund des SNT beurteilt wurden, erübrigt sich eine getrennte Darstellung nach der Beurteilung im SNT. Diese ist identisch mit der Endbeurteilung.

Die Proben im Bereich ΔE 0,2 - 0,3 waren zu 38,4 % positiv, zu 61,6 % negativ. Im Bereich 0,3 - 0,4 waren 53,2 % positiv, 46,8 % negativ. Im Bereich 0,4 - 0,5 verteilten sie sich zu 83,3 % als positive, zu 16,7 % als negative und im Bereich 0,5 - 0,6 waren 96,3 % positiv und 3,7 % negativ. (Siehe Abb. 14)

Der Vertrauensbereich der Prozentsätze ist in Abb. 15 dargestellt.

Abbildung 14: Verteilung der ΔE -Werte im ELISA
der in der Endbeurteilung positiven/
negativen Proben (nur Zweituntersuchungen)

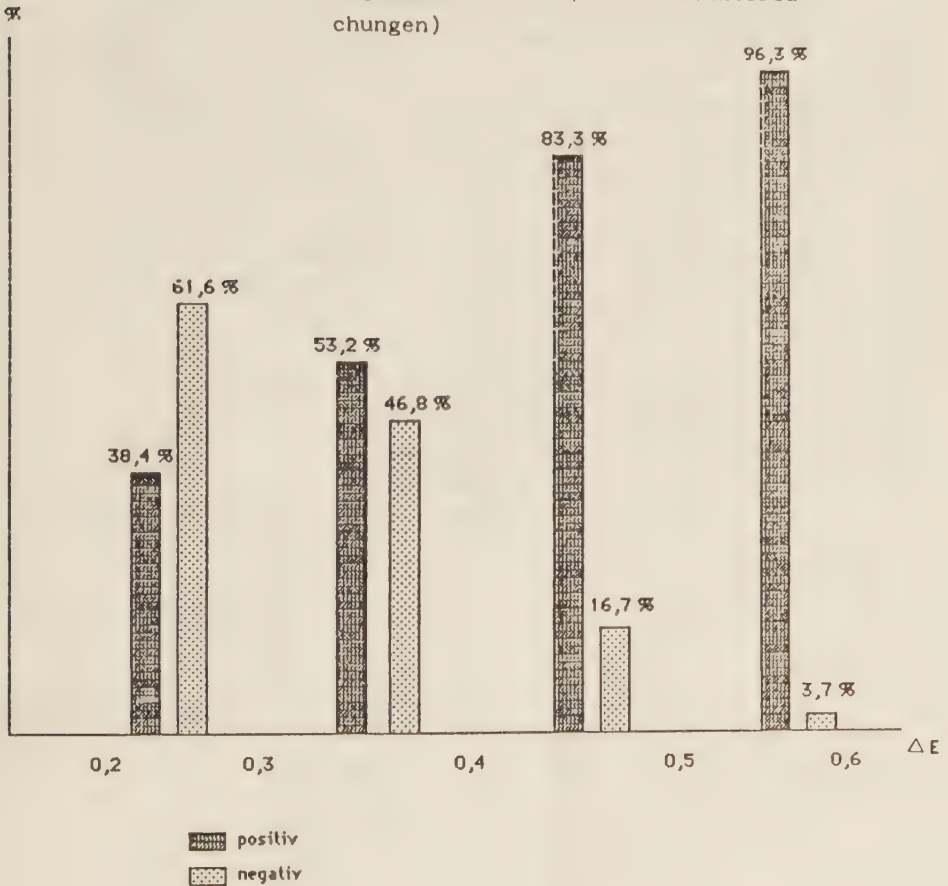
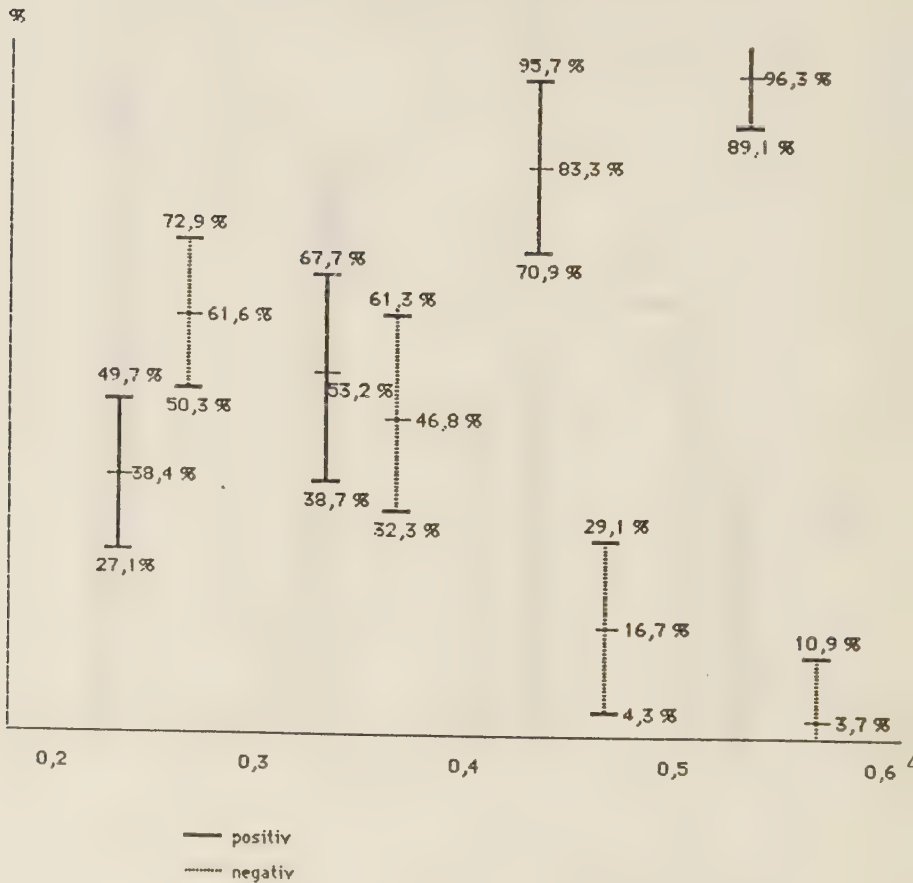


Abbildung 15: Vertrauensgrenzen zur Verteilung der ΔE -Werte im ELISA der in der Endbeurteilung positiven/negativen Proben (nur Zweituntersuchungen)

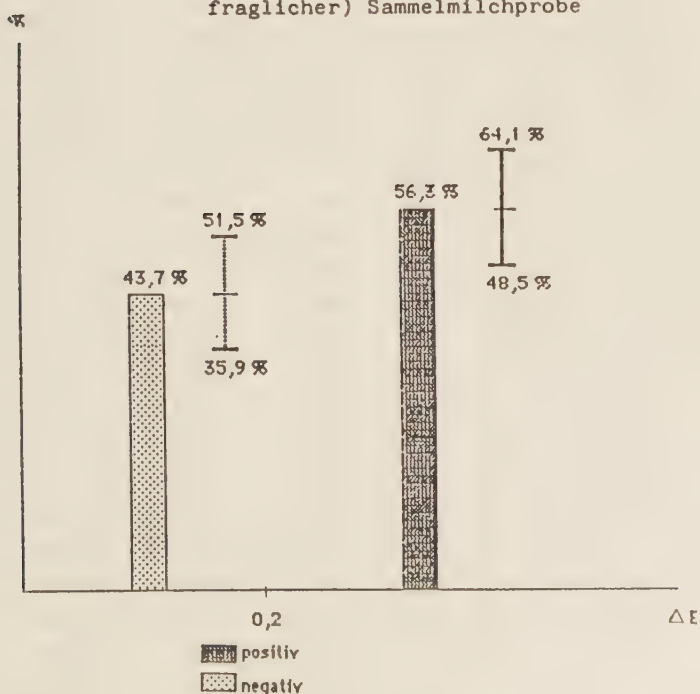


2.8. Beurteilung positiver oder fraglicher Sammelmilchproben nach Einzeltieruntersuchung der Bestände

Es wurden Tiere aus 160 Betrieben, in denen die Sammelmilchprobe positiv oder fraglich ausfiel, einer Einzeluntersuchung unterzogen. Hierbei konnte festgestellt werden, daß in 43,7 %, das sind 70 Betriebe, kein fragliches oder positives Tier gefunden wurde. In 56,3 %, das sind 90 Betriebe, wurden Reagenten ausgemacht, wobei 6,8 %, also in 11 Betrieben, höchstens zwei Tiere als fraglich, jedoch kein einziges mit positiv beurteilt wurden. (Siehe Abb. 16).

Der Vertrauensbereich ist in Abb. 16 als Linie neben den Balken dargestellt.

Abbildung 16: Verteilung der Bestandsbeurteilung auf Grund der Einzeltieruntersuchungen nach positiver (bzw.) fraglicher) Sammelmilchprobe



2.9. Tabellen der Meßwerte

Tabelle 1 und 2 stellen die Meßwerte dar, die als Grundlage der Untersuchungen dienten.

Tabelle 1 Meßwerte von 137 Erst- und Zweitproben einschließlich Endbeurteilung

1.ELISA	2.Elisa	SNT	Urteil	1.Elisa	2.Elisa	SNT	Urteil
0,200	0,000	-	neg	0,227	0,000	-	neg
0,200	0,148	pos	pos	0,233	0,097	neg	neg
0,200	0,260	neg	neg	0,234	0,070	-	neg
0,201	0,103	-	neg	0,234	0,108	neg	neg
0,201	0,142	-	neg	0,234	0,297	neg	neg
0,203	0,172	-	neg	0,235	0,150	-	neg
0,208	0,000	-	neg	0,236	0,346	neg	neg
0,210	0,102	-	neg	0,238	0,000	neg	neg
0,210	0,140	neg	neg	0,238	0,430	neg	neg
0,210	0,177	-	neg	0,239	0,127	neg	neg
0,210	0,216	neg	neg	0,239	0,228	pos	pos
0,211	0,129	-	neg	0,240	0,000	-	neg
0,212	0,150	-	neg	0,241	0,000	-	neg
0,212	0,263	neg	neg	0,242	0,013	-	neg
0,214	0,000	neg	neg	0,242	0,376	neg	neg
0,214	0,019	-	neg	0,244	0,247	neg	neg
0,215	0,000	neg	neg	0,245	0,146	-	neg
0,215	0,069	-	neg	0,246	0,100	-	neg
0,215	0,122	-	neg	0,247	0,081	-	neg
0,216	0,000	-	neg	0,247	0,427	pos	pos
0,216	0,098	-	neg	0,250	0,141	neg	neg
0,217	0,000	-	neg	0,250	0,175	-	neg
0,217	0,026	neg	neg	0,253	0,161	neg	neg
0,218	0,316	neg	neg	0,253	0,258	neg	neg
0,219	0,083	-	neg	0,255	0,284	pos	pos
0,219	0,160	neg	neg	0,257	0,282	neg	neg
0,220	0,182	neg	neg	0,259	0,160	neg	neg
0,224	0,000	-	neg	0,263	0,883	-	pos
0,224	0,000	-	neg	0,269	0,160	neg	neg
0,224	0,876	-	pos	0,270	0,264	pos	pos
0,224	0,911	-	pos	0,272	0,007	-	neg

1.ELISA	2.ELISA	SNT	Urteil	1.ELISA	2.ELISA	SNT	Urteil
0,276	0,057	neg	neg	0,358	0,298	pos	pos
0,276	0,159	-	neg	0,363	0,017	neg	neg
0,278	0,492	pos	pos	0,369	0,209	neg	neg
0,281	0,304	neg	neg	0,370	0,755	pos	pos
0,282	0,178	neg	neg	0,373	0,000	-	neg
0,283	0,079	-	neg	0,375	0,587	pos	pos
0,283	0,203	neg	neg	0,378	0,309	neg	neg
0,284	0,241	neg	neg	0,385	0,102	-	neg
0,286	0,736	-	pos	0,387	0,447	-	pos
0,288	0,213	neg	neg	0,393	0,380	pos	pos
0,289	0,293	pos	pos	0,397	0,945	-	pos
0,289	0,399	neg	neg	0,399	0,188	pos	pos
0,293	0,221	neg	neg	0,405	0,266	pos	pos
0,295	0,000	neg	neg	0,407	0,134	-	neg
0,295	0,000	-	neg	0,415	0,243	pos	pos
0,301	0,215	neg	neg	0,416	0,143	neg	neg
0,302	0,227	neg	neg	0,417	0,100	-	neg
0,309	0,157	neg	neg	0,422	0,457	pos	pos
0,312	0,190	neg	neg	0,423	0,431	pos	pos
0,316	0,133	-	neg	0,428	0,499	pos	pos
0,320	0,859	pos	pos	0,432	0,133	-	neg
0,322	0,000	-	neg	0,436	0,302	pos	pos
0,329	0,103	neg	neg	0,437	0,631	-	pos
0,331	0,096	-	neg	0,456	0,416	pos	pos
0,331	0,503	-	pos	0,462	0,346	pos	pos
0,334	0,300	neg	neg	0,462	0,395	pos	pos
0,335	0,000	-	neg	0,465	0,480	pos	pos
0,341	0,006	-	neg	0,472	0,013	pos	pos
0,344	0,118	-	neg	0,478	0,524	pos	pos
0,345	0,185	neg	neg	0,493	0,721	pos	pos
0,348	0,060	-	neg	0,504	0,674	-	pos
0,352	0,002	neg	neg	0,509	0,026	neg	neg
0,352	0,186	neg	neg	0,520	0,901	-	pos
0,354	0,181	neg	neg	0,522	0,000	-	neg
0,356	0,513	pos	pos	0,522	0,498	pos	pos

1.ELISA	2.ELISA	SNT	Urteil	1.ELISA	2.ELISA	SNT	Urteil
0,522	0,541	pos	pos	0,566	0,615	pos	pos
0,525	0,000	-	neg	0,572	0,693	pos	pos
0,542	1,092	-	pos				

Tabelle 2 Meßwerte der 183 Proben, die nur als Zweit-
proben bewertet werden konnten

ELISA	SNT=Urteil	ELISA	SNT=Urteil	ELISA	SNT=Urteil
0,200	neg	0,220	pos	0,260	neg
0,200	neg	0,220	neg	0,260	neg
0,200	neg	0,220	pos	0,260	neg
0,200	neg	0,220	neg	0,260	pos
0,200	neg	0,220	pos	0,260	pos
0,200	neg	0,220	neg	0,263	neg
0,200	neg	0,220	neg	0,264	neg
0,200	neg	0,221	neg	0,266	pos
0,200	neg	0,227	neg	0,270	neg
0,203	neg	0,228	pos	0,280	pos
0,209	neg	0,230	pos	0,280	pos
0,210	neg	0,230	neg	0,280	pos
0,210	pos	0,240	pos	0,280	pos
0,210	neg	0,240	neg	0,280	neg
0,210	neg	0,240	neg	0,282	neg
0,210	neg	0,240	pos	0,284	pos
0,210	neg	0,241	neg	0,289	pos
0,210	pos	0,243	pos	0,290	neg
0,210	pos	0,247	neg	0,290	pos
0,210	neg	0,249	pos	0,290	neg
0,210	pos	0,250	pos	0,290	pos
0,211	neg	0,258	neg	0,293	pos
0,213	neg	0,260	neg	0,297	neg
0,215	neg	0,260	neg	0,298	pos
0,216	neg	0,260	pos	0,300	pos

ELISA	SNT=Urteil	ELISA	SNT=Urteil	ELISA	SNT=Urteil
0,300	neg	0,380	pos	0,478	pos
0,300	pos	0,380	neg	0,480	pos
0,300	neg	0,380	pos	0,480	pos
0,302	pos	0,390	neg	0,483	pos
0,304	neg	0,390	pos	0,490	pos
0,305	neg	0,390	neg	0,490	pos
0,309	neg	0,390	neg	0,490	pos
0,316	neg	0,395	pos	0,492	pos
0,320	pos	0,399	neg	0,498	pos
0,320	pos	0,399	pos	0,499	pos
0,320	pos	0,400	pos	0,500	pos
0,320	pos	0,400	pos	0,501	pos
0,320	neg	0,410	pos	0,503	pos
0,320	neg	0,410	neg	0,510	pos
0,320	pos	0,413	pos	0,510	neg
0,320	pos	0,416	pos	0,513	pos
0,321	neg	0,420	pos	0,520	pos
0,330	pos	0,427	pos	0,520	pos
0,330	pos	0,430	neg	0,520	pos
0,330	neg	0,430	pos	0,524	pos
0,331	pos	0,431	pos	0,530	pos
0,340	pos	0,431	pos	0,530	pos
0,340	neg	0,431	neg	0,533	pos
0,340	pos	0,431	pos	0,540	pos
0,346	neg	0,432	pos	0,540	pos
0,346	pos	0,440	pos	0,541	pos
0,350	neg	0,447	pos	0,543	pos
0,357	pos	0,450	neg	0,560	pos
0,360	neg	0,450	pos	0,570	pos
0,360	neg	0,450	pos	0,572	pos
0,363	neg	0,457	pos	0,574	pos
0,370	pos	0,460	pos	0,576	pos
0,370	pos	0,470	neg	0,580	pos
0,370	pos	0,472	pos	0,587	pos
0,370	pos	0,475	neg	0,590	pos
0,376	neg	0,475	pos	0,594	pos
				0,597	pos

IV. Diskussion der Ergebnisse

Ziel dieser Arbeit war es zu untersuchen, ob es möglich ist, den für den "Enzygnost-IBR" ELISA der Behring-Werke "fraglichen Bereich"(siehe Protokolle der AVID) einzugrenzen. Es sollte weiterhin der Versuch unternommen werden, die Möglichkeiten der Sammelmilchprobenuntersuchung in der IBR-Diagnostik zu beleuchten.

Zur Untersuchung kamen 137 Proben, die im ELISA im fraglichen Bereich lagen. Als fragliche Reaktion galten

ΔE -Werte von 0,2 bis 0,6. Diese Proben wurden im Abstand von ca. 4 Wochen einer zweiten Untersuchung unterzogen. Erbrachte diese zweite Untersuchung wiederum ein fragliches Ergebnis, was bei 80 Tieren der Fall war, so wurde zur endgültigen Klärung ein SNT durchgeführt, dessen Ergebnis dann als entscheidend galt.

Schon die Verteilung der 137 Proben im fraglichen Bereich macht einiges deutlich. So entfielen die meisten auf die Bereiche ΔE 0,2 - 0,3 und 0,3 - 0,4, nämlich 56,2 % bzw. 23,4 % der Proben. Auf die Bereiche 0,4 - 0,5 und 0,5 - 0,6 entfielen nur 13,1 % bzw. 7,3 %. Hieraus läßt sich hochrechnen, daß von den insgesamt 2,5 % also 3.269 fraglichen Proben, bezogen auf die Gesamtuntersuchungszahl des Jahres 1986, etwa 20 %, das heißt 653, im Bereich 0,4 - 0,6 liegen. (Abb. 1 und 2)

Betrachtet man nun die prozentualen Anteile der sowohl im ELISA als auch der im SNT als positiv bzw. negativ beurteilten Tiere innerhalb der einzelnen Bereiche ΔE 0,2 und 0,6, so läßt sich feststellen, daß mit steigendem ΔE der Anteil der positiven stetig zunimmt, während der Anteil der negativen entsprechend abnimmt. (Abb. 6 und 8) Das heißt, in der Gruppe mit ΔE 0,5 - 0,6 waren nur 3 Tiere negativ, in der Gruppe ΔE 0,4 - 0,5 nur 4 Tiere.

Faßt man diese beiden Ergebnisse zusammen (Abb.10), so stellen die negativen Tiere im Bereich 0,5 - 0,6 nur 2,2 % der Gesamtzahl der fraglich beurteilten dar und im Bereich ΔE 0,4 - 0,5 nur 2,9 %.

Bei der zweiten Gruppe von 183 Tieren, bei denen nur die Zweituntersuchung gewertet werden konnte, zeigte sich eine ähnliche Verteilung. Im Bereich ΔE 0,5 - 0,6 lagen 14,8 % (gleich 27 Tiere), Im Bereich 0,4 - 0,5 waren es 19,7 % (gleich 36 Tiere). Von diesen wurden mit negativ beurteilt: 3,7 % (1 Tier) im Bereich 0,5 - 0,6 und 16,7 % (6 Tiere) im Bereich 0,4 - 0,5. Rechnet man auch diese Zahl auf die Gesamtheit der fraglichen Tiere (183) um, so zeigt sich, daß im Bereich ΔE 0,5 - 0,6 die negativ beurteilten Tiere nur 0,5 % ausmachen und im Bereich ΔE 0,4 - 0,5 nur 3,2 %.

Faßt man beide Gruppen zusammen, so entfallen in den Bereich ΔE 0,5 - 0,6 nur 4 von 320 Tieren = 1,25 %, die negativ beurteilt wurden, in den Bereich 0,4 - 0,5 nur 10 von 320 Tieren = 3,1 %.

Anläßlich der 3. Arbeitstagung der AVID am 10./11.2.87 in Hannover wurde beschlossen, den oberen cut-off-Wert bei 0,5 festzusetzen. Dies hat zur Folge, daß sich die Anzahl der bis dahin fraglich beurteilten Proben um ca. 11 % verringert. Würde man den oberen cut-off-Wert um weitere 0,1 ΔE auf 0,4 senken, so würden insgesamt ca. 27 % weniger Proben anfallen, die ein zweites oder sogar drittes Mal untersucht werden müßten, das wären bezogen auf die Untersuchungszahlen des Jahres 1986 in Nordbayern ca. 900 Proben. Rechnet man damit, daß eine Probe die Tierseuchenkasse etwa DM 20,-- kostet, belaufen sich 900 Proben auf etwa DM 18.000,--. Eine weitere Folge wäre, daß mit einer Senkung des cut-off-Wertes auf 0,4 von den auf diese Weise positiv beurteilten Proben

etwa 3,1 % falsch positiv wären.

Hat man jedoch das Ziel vor Augen, nämlich die Tilgung der IBR, so muß man bestrebt sein, in erster Linie keine falsch negativen Ergebnisse zu bekommen; man sollte also den oberen cut-off-Wert so niedrig wie möglich ansetzen. Die dabei anfallenden 3,1 % möglicherweise falsch positiver Tiere kann man dabei in Kauf nehmen, da in weiten Bereichen der Statistik sogar eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % toleriert wird. Dem Argument, man dürfe keine Tiere falsch beurteilen, sei entgegengehalten, daß es bei entsprechend großer Probenzahl wahrscheinlich wäre, auch im Bereich von ΔE über 0,6 noch negative Tiere zu finden.

Nicht tolerierbar wäre jedoch die Anhebung des unteren cut-off-Wertes, weil ein wesentlich höherer Prozentsatz im Bereich ΔE 0,2 - 0,3 positiv ist (12,1 %, das heißt 39 von 320 Tieren) und weil dadurch ein unerkannter Virusträger für negativ erklärt werden könnte. Von diesen latent infizierten Tieren geht jedoch die größte Gefahr aus, da diese ganze Bestände oder die Tiere eines ganzen Marktes anstecken können und somit zur raschen Weiterverbreitung beitragen.

Es muß daher das Ziel der Tierärzteschaft sein, die Tierhalter aufzuklären und dahingehend auf sie einzuwirken, einzelne infizierte Tiere der wirtschaftlichen Verwertung zuzuführen. Anderenfalls, wenn große Teile des Bestandes befallen sind, sollte der Tierhalter die Möglichkeiten des Bekämpfungsprogramms (z.B. Schutzimpfung) regelmäßig nutzen.

Die Unterschiede in der Beurteilung zwischen Sammelmilchprobe einerseits und bestandsmäßiger Einzeltieruntersuchung andererseits erscheinen auf den ersten Blick eklatant. Immerhin konnten bei 43,7 % der mit Hilfe der Sam-

melkmilchuntersuchung als fraglich oder positiv eingestuft Betriebe in der Einzeltieruntersuchung keine Antikörper nachgewiesen werden. Hierbei müssen jedoch einzelne Punkte beachtet werden:

1. Zwischen Sammelmilchprobe und Einzeltieruntersuchung können Tiere, möglicherweise Reagenten, aus dem Bestand entfernt worden sein.
2. Es besteht die Möglichkeit, daß bei der Probennahme einzelne Tiere vergessen oder übersehen werden.
3. Eine weitere Fehlermöglichkeit, die schon nachgewiesen wurde, besteht darin, daß ein Landwirt mit einem negativen Bestand, welcher sein Milchkontingent jedoch nicht ausfüllt, seinen Tank von einem Nachbarn, dessen Milchproduktion zu hoch ist, auffüllen läßt. Sind nun unter den Tieren jenes Nachbarn Virusträger, so wird das Ergebnis der Sammelmilchprobe verfälscht.
4. Die Grenzwerte für Sammelmilchproben von 9 - 13 % der positiven Kontrolle für die Bewertung "fraglich" sind wesentlich sensitiver gezogen als die für die Einzeltieruntersuchung. Dazu kommt noch die zehnfache Konzentration der Sammelmilch, während Einzeltierproben im vorliegenden Falle 1 : 20 vorverdünnt werden.
5. Letztlich sind in der Anlaufphase des Bekämpfungsverfahrens Beschriftungsfehler der Sammelmilchproben vorgekommen.

Betrachtet man all diese Fehlermöglichkeiten, so relativiert sich die Diskrepanz der Ergebnisse. Die Sammelmilchprobe stellt ohne Frage ein wertvolles Hilfsmittel zur orientierenden Bestandsuntersuchung dar, zumindest so lange, wie noch keine anderen, weniger aufwendigen Methoden zur Verfügung stehen, wie z.B. der Intrakutantest. Allerdings wäre zu überlegen, ob es nicht sinnvoll

wäre, in der Nomenklatur der Ergebnisse eine Änderung dahingehend durchzuführen, daß die Proben, die jetzt mit "positiv" befundet werden, zusammen mit den "fraglichen" als "verdächtig" eingestuft werden. Entsprechend wären die "negativen" Resultate als "unverdächtig" zu bezeichnen. Das hätte den Vorteil, daß für die Tierhalter die Ergebnisse glaubhafter würden, wenn nicht für ein und denselben Tierbestand das Ergebnis einmal "positiv" (Sammelmilchprobe) und das andere Mal "negativ" (Einzeltieruntersuchung) lautete.

V. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde der Versuch unternommen, geeignete und praktikable Grenzwerte für den "fraglichen" Bereich in der Diagnostik der infektiösen bovinen Rhinotracheitis (IBR/IPV) mittels ELISA zu finden. Weiterhin wurden die Ergebnisse der Sammelmilchproben mit denen der Einzeltieruntersuchung verglichen.

Es standen zwei Gruppen von 137 bzw. 183 Tieren zur Verfügung, die mit fraglichem Ergebnis (ΔE 0,2 - 0,6) im ELISA untersucht worden waren. Bei der zweiten Gruppe war das genaue Ergebnis der Voruntersuchung (ΔE -Werte) auf Grund der Begleitberichte im einzelnen nicht feststellbar.

Die Untersuchung dieser Proben fand im ELISA statt. Bei nochmaligem fraglichem Ergebnis wurde der Serumneutralisationstest durchgeführt.

Die Verteilung der ΔE -Werte im ELISA ergab für die beiden Stichproben folgendes Bild:

ΔE 0,2 - 0,3	56,2 %	bzw. 39,9 %
ΔE 0,3 - 0,4	23,4 %	bzw. 25,7 %
ΔE 0,4 - 0,5	13,1 %	bzw. 19,7 %
ΔE 0,5 - 0,6	7,3 %	bzw. 14,8 %

Faßt man die Endbeurteilungen der beiden Gruppen zusammen, so ergeben sich für die Bereiche ΔE 0,2 - 0,3 12,1 % positive Tiere, für ΔE 0,3 - 0,4 10,9 % positive, für ΔE 0,4 - 0,5 13,7 % positive und für ΔE 0,5 - 0,6 10,3 % positive.

Da die beiden letzten Bereiche im Vergleich zur Gesamtzahl der fraglichen Proben nur schwach besetzt sind, ergeben sich auf die Gesamtzahl bezogen im Bereich ΔE 0,5 - 0,6 nur 1,25 % als negativ beurteilte Tiere, im Bereich ΔE 0,4 - 0,5 nur 3,1 %.

Eine Absenkung des oberen cut-off-Wertes von ΔE 0,5 auf ΔE 0,4 bringt einerseits eine Reduzierung der Zweit- und eventuellen Drittuntersuchungen um 27 %, andererseits liegt der Anteil der möglicherweise falsch positiv beurteilten Tiere um 3,1 %.

Im Rahmen eines Bekämpfungsverfahrens erscheint dieser Anteil tolerierbar. Die Senkung des oberen cut-off-Wertes auf ΔE 0,4 wäre daher ein praktikabler Vorschlag zur Vereinfachung und Verbilligung des Verfahrens.

Der untere cut-off-Wert von ΔE 0,2 für den fraglichen Bereich ist jedoch beizubehalten, da der Bereich 0,2 - 0,3 immerhin noch 12,1 % positiver Tiere beinhaltet.

Die Sammelmilchprobe stellt bis zur Entwicklung alternativer Verfahren (z.B. Intrakutantest) zur orientierenden Bestandsüberprüfung das Mittel der Wahl dar, sollte aber, um die Diskrepanz zwischen Sammelmilchprobe und Einzeltieruntersuchung (43,7 %) nicht zu dramatisieren, mit den Beurteilungen "verdächtig" (für "fraglich" und "positiv") bzw. "unverdächtig" (für "negativ") bezeichnet werden.

VI. SUMMARY

On the problem of suitable and practicable cut-off-values in diagnosis of Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR) with ELISA

In this thesis an attempt was made to find suitable and practicable critical values for the sphere in question for use in the diagnostic process of the infectious bovine Rhinotracheitis (IBR/IPV) by means of ELISA. In addition, the results of the collective milk sample test were compared with the results of the individual animal examination.

Two groups of animals, consisting of 137 and 183 animals were available, they were initially examined in ELISA with questionable results (ΔE 0,2 - 0,6). For the second group, the exact result of the preliminary examination (ΔE -Values) was obtained from the covering report on all details could not be ascertained.

The investigation of these samples was made with ELISA. If the results were once more questionable, a serum-neutralizing test was made. The distribution of the ΔE -Values in ELISA gave in both samples the following results:

ΔE 0,2 - 0,3	56,2 % respectively 39,9 %
ΔE 0,3 - 0,4	23,4 % respectively 25,7 %
ΔE 0,4 - 0,5	13,1 % respectively 19,7 %
ΔE 0,5 - 0,6	7,3 % respectively 14,8 %

If one summarizes the final results of both groups, so it is proved that there are for the sphere ΔE 0,2 - 0,3 12,1 % positive animals, for ΔE 0,3 - 0,4 10,9 % positive animals, for ΔE 0,4 - 0,5 13,7 % positive animals, for ΔE 0,5 - 0,6 10,4 % positive animals.

Because the both of the last spheres in comparison to the total number of the samples in question were only occupied very little, it is proved, with reference to the total number in the sphere ΔE 0,5 - 0,6 only 1,25 % as negative investigated animals, in the sphere ΔE 0,4 - 0,5 only 3,1 %.

The lowering of the upper cut-off-value from ΔE 0,5 to 0,4 on the one hand brings about a reduction of the second and if necessary third investigation by 27 %, on the other hand, the error rate of the possibly incorrect positive values comes to 3,1 %. In the course of the combat process, this quote seems to be tolerable. The lowering of the upper cut-off-value to ΔE 0,4 also would be a practicable proposal for making this process simpler and more cost effective. The lower cut-off-value of ΔE 0,2 for the sphere in question must be retained, because the sphere 0,2 - 0,3 still contains 12,1 % of positive animals.

The collective milk sample test is the preferable method for introductory stock checking until alternative processes are developed (f.e. Intracutantest). For one must beware of dramatizing the differences of 43,7 % between the collective-milk-sample-test and the individual samples. It should therefore be indicated by the words "suspected" (for questionable and positive animals) and "unsuspected" (for negative animals).

IV. Literaturverzeichnis

Albrecht E., Romer H., Reissbauer G., Wagenseil F.,
Oesterle P. (1985):

BHV 1 (IBR/IPV) - Infektion. Serologische Untersuchung
über die Verbreitung im Regierungsbezirk Tübingen und
den Verlauf in infizierten Beständen.

Tierärztl. Umschau 40, S. 652 - 658

AVID, 2. Arbeitstagung (1986):

Protokoll der 2. Arbeitstagung der Arbeitsgemeinschaft
Veterinärmedizinischer Infektionsdiagnostiker in Grub
am 26.-27.6.1986

AVID, 3. Arbeitstagung (1987):

Protokoll der 3. Arbeitstagung der Arbeitsgemeinschaft
Veterinärmedizinischer Infektionsdiagnostiker in
Hannover am 10.-11.2.1987

Bauer K. (1984):

Infektiöse Bovine Rhinotracheitis/Infektiöse Pustulöse
Vulvovaginitis.

Tierärztl. Umschau 39, S. 178 - 184

Bauer K., Gerbermann H., Schmittziel E., Winteroll G.
(1980):

Serologische Untersuchungen über den Verbreitungsgrad
der IBR/IPV-Virusinfektion bei Rindern in Bayern..

Tierärztl. Umschau 35, S. 594 - 600

Behrens F., Ziegelmaier E., Toth T., v. Keyserlingk M.,
Forschner E. (1979):

Rinderleukosediagnostik: ELISA - ein neues Verfahren.

Berl.-Müchn. tierärztl. Wochenschrift 92, S. 429 - 432

Bolton D.C., Cho H.J., Alexander A.A., Kelly B., Zee Y.C.
(1981):

Evaluation of the critical parameters of a sensitive
ELISA test using purified infectious bovine rhino-
tracheitis virus antigens.

Vet. Microbiol. 6, S. 265 - 279

Cavalli-Shorza L. (1974):

Grundzüge biologisch medizinischer Statistik.

Gustav Fischer Verlag, Stuttgart

Charan S., Gautam O.P. (1984):

Applications of enzyme-linked immunosorbent assay in
veterinary medicine: a bibliography.

Vet. Res. Commun. 8, S. 255 - 267

Cho H.J., Bohac J.G. (1985):

Sensitivity and specificity of an enzyme linked immuno-
sorbent assay for the detection of infectious bovine
rhinotracheitis in cattle.

Can. J. Comp. Med. 49, S. 189 - 194

Chow L.T. (1972):

Duration of immunity in heifers inoculated with
infectious bovine rhinotracheitis virus.

J. Amer. Vet. Med. Ass. 160, S. 51 - 54

Collins J.K., Bulla G.A., Riegel C.A., Butcher A.D.
(1985):

A single dilution enzyme-linked immunosorbent assay
for the quantitative detection of antibodies to
Bovine Herpesvirus Type 1.

Vet. Microbiol. 10, S. 591 - 597

Dempfle L., Schmittdiel E., Birlbauer R., Bauer K.,
Singer H. (1985):

Bayern: IBR-Befall bei zehn Prozent. Ergebnis einer
Stichprobenuntersuchung in 600 Betrieben.

Bayer. Landwirtsch. Wochenblatt 175, S. 20 f.

Doll K. (1986):

Erhebungen über Symptomatologie, Morbidität und Letali-
tät der infektiösen bovinen Rhinotracheitis (IBR) und
der Bovinen Virusdiarrhoe-Mucosal disease (BVD-MD) in
bayerischen Rinderbeständen.

Tierärztl. Umschau 41, S. 249 - 260

Engvall E., Perlmann P. (1971):

Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), quantitative
assay of immunoglobulin G.

Immuno chemistry 8, S. 871 - 874

Forschner E., Dopatka H.D., Bünger I., Witte K.H. (1981):
Aujeszky'sche Krankheit der Schweine: Zur Einsatzmöglich-
keit eines ELISA für den Nachweis von virusspezifischen
Serumantikörpern.

Dtsch. tierärztl. Wschr. 88, S. 134 - 139

Forschner E., Bünger J. (1986):

Nachweis von IBR/IPV-, Leukose- und Brucellose-Antikör-
pern in Bestandsmilchproben mit ELISA nach einer einfa-
chen Konzentrierungsmethode.

Dtsch. tierärztl. Wschr. 93, S. 112 - 115

Frey H.R., Hirschert R., Teichmann U., Schröder E. (1974):

Serologische Erhebungen über den Verbreitungsstand der
IBR/IPV Infektion bei Rindern in Zuchtgebieten Nieder-
sachsens und Schleswig-Holsteins.

Dtsch. tierärztl. Wschr. 81, S. 607 - 610

Frost J.W., Wagner K. (1982):

Zur Verbreitung der IBR-IPV Virusinfektion bei Rindern in Hessen.

Tierärztl. Umschau 37, S. 176 - 177

Geller H., Heiner H.H.; Kühne H. (1981):

Probleme bei der Bewertung des Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, verursacht durch Hintergrundreaktionen (Backgroundstaining).

Berl.-Münchn. tierärztl. Wschr. 94, S. 36 - 37

Gründer H.-D., Reuleaux I.-R., Liess B. (1960):

Feststellung der virusbedingten Rhinotracheitis infectiosa des Rindes.

I. Herkunft und Isolierung des Virus.

Dtsch. tierärztl. Wschr. 67, S. 514 - 519

Hebert C.H., Edwards S., Bushnell S., Jones P.C.,

Perry C.T. (1985):

Establishment of a statistical base for use of ELISA in diagnostic serology for infectious bovine rhinotracheitis.

J. Biol. Standard 13, S. 243 - 253

Kretschmar C., Kokles R., Lüpcke W., Ulbrich F. (1977):

Verbreitung, Bedeutung, Epizootiologie und Bekämpfung der Infektion des Rindes mit dem Virus der infektiösen bovinen Rhinotracheitis und infektiösen pustulösen Vulvovaginitis (IBR/IPV).

Monatsheft Veterinärmed. 32, S. 521 - 528

Madin S.H., York C.J., Mc Kercher D.G. (1956):

Isolation of the infectious bovine rhinotracheitis virus. Science 124, S. 721 - 722

Mayr. A. (1982):

Herpesvirus-Infektionen der Tiere.

Dtsch. tierärztl. Wschr. 89, S. 44 - 46

Mayr A. (1983):

Wesen und Bekämpfung der infektiösen bovinen Rhinotracheitis (IBR) und infektiösen pustulösen Vulvovaginitis (IPV).

Prakt. Tierarzt 64, S. 784 - 794

Mayr A., Eissner G., Mayr-Bibrack B. (1985):

Handbuch der Schutzimpfungen in der Tiermedizin.

Parey-Verlag, Berlin und Hamburg

Mc Kercher D.G., Moulton J.E., Kendrick J.W.,

Saito J. (1955):

Recent developments on upper respiratory disease of cattle.

in: Proc. 59 th Ann. US Livestock San. Assoc. S. 151-167

Meyer H., Mayr A., Bachmann P.A., Bernardi G.,

Wagner H. (1985):

Schutzimpfung von latent IBR/IPV-Virus infizierten

Bullen mit einer Vakzine aus inaktiviertem IBR-Virus.

Tierärztl. Umschau 40, S. 974 - 985

Moennig V., Woldesenbet P., Frey H.-R., Liess B.,

Dopatka H.P., Behrens F. (1981):

Vergleichende Untersuchungen von Schweineseren mit einem Enzym-Immuntest (ELISA) und dem Neutralisationstest zur serologischen Diagnose bei der Aujeszky'schen Krankheit des Schweines.

Dtsch. tierärztl. Wschr. 88, S. 357 - 359

Nettleton P.F., Herring J.A. (1981):

Laboratory confirmation of IBR-virus induced abortion.

Vet. Rec. 108, S. 243

Nitzschke E., Dicke B., Priefler R. (1971):

Untersuchungen über die Verbreitung von Infektionen mit verschiedenen Virusarten (MD/VD, IBR/IPV, PI 3, Enterovirus) und Bedsonia in den Rinderbeständen von Rheinland Pfalz.

Tierärztl. Umschau 26, S. 597 - 603

Payment P., Assaf R., Trudel M., Marois P. (1979):

Enzyme-linked immunosorbent assay for serology of infectious bovine rhinotracheitis virus infections.

J. clin. Microbiol. 10, S. 633 - 636

Riggenbach C. (1985)

Bekämpfung von IBR/IPV in der Schweiz.

Tierzüchter 37, S. 297 - 298

Rolle M., Mayr A. (1984):

Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre. Ferdinand Enke Verlag - Stuttgart

Rothschuh L. (1980):

Serologische Untersuchungen über den Verbreitungsgrad der IBR/IPV-Virusinfektion bei Rindern im Rheinland.

Tierärztl. Umschau 35, S. 289 - 292

Schilow W.F., Meyer U. (1985):

Durchführung und Anwendungsmöglichkeiten des ELISA in der veterinärmedizinischen Virusdiagnostik.

Monatsheft Veterinärmed. 40, S. 186 - 189

Schroeder R.J., Moys M.D. (1954)

An acute upper respiratory infection of dairy cattle.

J. Am. Vet. Ass. 125, S. 471 - 472

Straub O.C., Bengelsdorff H.-J., Moser H. (1986):

IBR-Belastungsversuche nach Impfung von Jungrindern mit der Rinder Grippe-IBR-Adsorbatvakzine Bovigrip^R plus.

Tierärztl. Umschau 41, S. 605 - 613

Straub O.C. (1983):

Über den IBR/IPV-Krankheitskomplex.

Veterinärmed. Nachr. 2, S. 119 - 131

Thein P. (1980):

Herpesvirusinfektionen bei Mensch und Tier, ihre
Problematik und Bekämpfung.

Berl.-Münchn. tierärztl. Wschr. 93, S. 201 - 205

An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. mult. A. Mayr herzlich für die Überlassung des Themas und die freundliche Unterstützung danken.

Dem Leiter der Abt. II des Landesuntersuchungsamtes für das Gesundheitswesen in Nürnberg Herrn Dr. Bauer möchte ich für die Überlassung des Untersuchungsmaterials sowie für die vielen konstruktiven Anregungen und die freundliche Unterstützung danken.

Ein weiterer Dank gilt den Mitarbeitern des Landesuntersuchungsamtes in Nürnberg Herrn Dr. Bogner und Herrn Dr. Singer für ihre freundlichen Ratschläge.

Lebenslauf

- 1957 geboren am 25. Februar als einziges Kind des Ingenieurs Arndt-Walter Eiler und seiner Ehefrau Elfriede, geborene Hoff.
- 1963 Eintritt in die Volksschule in Erlangen.
- 1967 Übertritt auf das Humanistische Gymnasium in Erlangen.
- 1977 Abschluß des Gymnasiums mit dem Abitur.
- 1977-
1980 Verschiedene Tätigkeiten in einem landwirtschaftlichen Betrieb mit kleiner Pferdezucht und Reitbetrieb.
- 1980 Beginn des Studiums der Tiermedizin in München.
- 1986 Staatsexamen in München und Approbation.
- 1986 Beginn der vorliegenden Arbeit.
- seit 1980 verheiratet, 1 Kind (geb. 1982)

